

SÉRIE A. n° 1263

N° D'ORDRE : 2134

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Pierre GAVAUDAN

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA CELLULE DES HÉPATIQUES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le *14 février* 1930, devant la Commission d'examen

Président : M. P.-A. DANGEARD.

Examineurs : { M. P. PORTIER.
M. A. DEREIMS.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUVE & C^o, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1930

SÉRIE A. n° 1263
N° D'ORDRE: 2134

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Pierre GAVAUDAN

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA CELLULE DES HÉPATIQUES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1930, devant la Commission d'examen

Président : M. P.-A. DANGEARD.

Examineurs : { M. P. PORTIER.
M. A. DEREIMS.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUBE & C^e. ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1930

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen Ch. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyens honoraires . . . P. APPELL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires. A. JOANNIS.
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
E. HÉROUARD.



ÉMILE PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
G. KOENIGS Mécanique physique et expérimentale.
E. GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
P. JANET Electrotechnique générale.
F. WALLERANT Minéralogie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
Gabriel BERTRAND Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
M. GAULLERY Zoologie (Evolution des êtres organisés).
G. URBAIN Chimie générale.
Émile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS Aviation.
Jean PERRIN Chimie physique.
Rémy PERRIER Zoologie (Enseignement P.C.N.).
H. ABRAHAM Physique.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
E. CARTAN Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE Physiologie générale.
E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformations.
A. COTTON Physique générale.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY Physique.
Charles PÉREZ Zoologie.
Léon BERTRAND Géologie structurale et géologie appliquée.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
E. RABAUD Biologie expérimentale.
P. PORTIER Physiologie comparée.
E. BLAISE Chimie organique.
P.-A. DANGEARD Botanique.
Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT Anatomie et Histologie comparées.
O. DUBOSQ Biologie maritime.
G. JULIA Mathématiques générales.
A. MAILHE Etude des combustibles.
L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB Géologie.
P. PASCAL Chimie minérale.
Léon BRILLOUIN Théories physiques.
V. AUGER Chimie appliquée.
E. ESCLANGON Astronomie.

Professeurs

E. PÉCHARD . . .	Chimie (Ens ^t P.C.N.).	L. JOLEAUD . . .	Paléontologie.
M. GUICHARD . .	Chimie minérale.	M. JAVILLIER . .	Chimie biologique.
A. GUILLET . . .	Physique.	A. DUFOUR . . .	Physique (P.C.N.).
G. MAUGUIN . . .	Minéralogie.	F. PICARD . . .	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
L. BLANRINGHEM .	Botanique.	ROBERT-LÉVY . .	Zoologie.
A. MICHEL-LÉVY .	Pétrographie.	L. DUNOYER . . .	Optique appliquée.
A. DENEHMS . . .	Géologie.	A. GUILLIERMOND .	Botanique (P.C.N.)
A. DENJOY . . .	Calcul différ ^l et intég ^l .	A. DEBIERNE . . .	Radioactivité.
H. BÉNARD . . .	Physique (P.C.N.).	M. FRÉCHET . . .	Calcul des Probabilités et Physiques mathématiques.
E. DARMOIS . . .	Physique.		
C. BRUHAT . . .	Physique.		
H. MOUTON . . .	Chimie physique.		

Secrétaire A. PACAUD.

A. MONSIEUR LE PROFESSEUR P. A. DANGEARD

Membre de l'Institut

Hommage de ma profonde gratitude.

P. GAVAUDAN.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Recherches sur la cellule des Hépatiques

INTRODUCTION

Lorsque nous entrâmes, il y a déjà plusieurs années, au Laboratoire de Botanique de la Sorbonne, pour y étudier la Cytologie végétale, Monsieur le Professeur P.-A. DANGEARD attira notre attention sur l'intérêt qu'il pouvait y avoir à examiner systématiquement le vacuome des Muscinées, des Hépatiques et des Lichens, et à suivre son évolution au moyen de la technique des colorations vitales qui avait déjà donné chez les Algues et les Champignons des résultats si intéressants.

Cependant, les hépatiques retinrent seules notre attention, tandis que l'objet primitif de nos travaux s'élargissait. En particulier, de nombreux problèmes se posaient à propos du vacuome de ces cryptogames, des recherches récentes ayant établi une relation entre la production des substances osmiophiles contenues dans certains éléments cellulaires et l'évolution du système vacuolaire.

Nous disposions d'un abondant matériel présentant très souvent des fructifications, aussi les phénomènes sexuels retinrent-ils naturellement notre attention et en particulier nous fîmes porter nos efforts sur la spermatogénèse des Marchantiées. Ce mémoire est donc, comme son titre l'indique, une contribution à l'étude de la cellule des hépatiques en général, et présente des parties assez différentes, puisque nous avons étudié des phénomènes d'ordres très divers tels que l'évolution du vacuome et la formation des différentes inclusions cytoplasmiques osmiophiles, d'une part, la spermato-

génèse d'autre part. On comprendra facilement qu'il nous a été indispensable de séparer complètement l'historique de chacune des principales parties qui composent ce travail, auxquelles sont également réservées des conclusions particulières.

Voici donc, dans ses grandes lignes, le plan que nous avons adopté dans le classement de nos notes :

On trouvera :

1° *Des renseignements sur la technique employée, et des indications sur la terminologie.*

2° *Une description générale de la cellule des hépatiques (historique et remarques personnelles).*

3° *L'exposé de nos recherches concernant les relations du vacuome et de l'ergastome, dans les cellules du thalle, les propagules et les spores, ainsi qu'une conclusion se rapportant à ces phénomènes.*

4° *Quelques remarques sur l'action élective du nitrate d'Argent sur les plastes et la théorie du Chondriome homogène.*

5° *Un chapitre consacré à l'étude de la spermatogénèse chez Marchantia polymorpha.* L'historique de cette question étant particulièrement embrouillé et chargé, nous avons pensé qu'il était préférable de ne pas le séparer absolument de l'exposé de nos propres travaux, et qu'il était préférable, de procéder, chemin faisant, à l'exégèse des opinions des auteurs, pour des facilités critiques.

6° *Un chapitre résumant nos observations sur les phénomènes de Spermatogénèse tératologique que nous avons découverts chez Marchantia polymorpha, et traitant de façon plus générale de l'action du parasitisme des champignons sur la biologie des Hépatiques et du problème de la symbiose chez ces cryptogames.* Avant de clore cette courte introduction, nous remercions M. le Professeur P.-A. DANGEARD pour l'attention sympathique avec laquelle il a toujours suivi nos travaux. Nous ne savons en quels termes lui témoigner la reconnaissance que nous éprouvons pour les heureuses suggestions et

les conseils de tout ordre qu'il nous a prodigués avec une bienveillance inlassable. Qu'il veuille bien, avec l'hommage de ce travail que nous lui dédions, accepter l'expression de notre respectueuse et sincère gratitude.

Nos remerciements vont également à M. P. DANGEARD, assistant, qui nous fit profiter de maints renseignements utiles, ainsi qu'à ceux qui contribuèrent si souvent à nous procurer les nombreuses espèces d'hépatiques (1) que nous avons examinées : ce sont nos deux condisciples et amis, R. KUHNER et M. CLEMENCET, ainsi que M. FARGEAS, jardinier au Muséum.

1. Les principales stations d'où proviennent nos hépatiques sont : la forêt de Fontainebleau, la forêt du Praz à Saint-Bon (Savoie) ; diverses localités du département de Vaucluse ; le bois de Vincennes (Paris). Enfin, et surtout la forêt de Carnelle et la région de Presles (Oise).

TERMINOLOGIE

Pour tout ce qui concerne la désignation des constituants du cytoplasme des hépatiques, nous avons adopté la terminologie de P.-A. DANGEARD. L'ensemble du système vacuolaire prend le nom de *vacuome*, terme aujourd'hui universellement adopté tant par les Zoologistes que par les Botanistes. Les plastes reçoivent le terme de *Plastidome* ou *Plas-tome*; enfin pour désigner les formations cytoplasmiques conservées par les fixateurs sans acide acétique dits Mitochondriaux, nous avons indifféremment employé les expressions de *Chondriome* ou de *Cytome*.

Les précipités se formant sous l'action des colorants vitaux soit dans le cytoplasme, soit au sein des vacuoles, sont respectivement désignés sous le nom de *chromidies* ou d'endochromidies selon une terminologie que P.-A. DANGEARD [38] a encore récemment précisée. La substance, ou plutôt les complexes colloïdaux qui adsorbent les colorants vitaux dans la vacuole, après précipitation, conservent le nom générique de métachromatine. Il est inutile d'insister plus longuement sur cette terminologie; elle repose sur des découvertes qui ont complètement modifié les conceptions que l'on se faisait, il y a quinze ans, du système cellulaire. Il suffit de se reporter aux travaux classiques de P.-A. DANGEARD, GUILLIERMOND, P. DANGEARD. En ce qui concerne les diverses inclusions réfringentes et osmiophiles, que l'on rencontre en abondance dans le cytoplasme des hépatiques, la difficulté a été plus grande pour trouver une terminologie. Les auteurs ne sont nullement d'accord en ce qui a trait à la composition chimique de ces inclusions, et chacun d'eux emploie pour les

désigner un terme en rapport avec l'idée qu'il se fait de leur origine. Il existe de nombreux termes : Oëlkorper correspondant à Oil-Body et à Oléocorps que nous avons parfois utilisés nous même;; Corps oléiforme de P. DOMBRAY [46] ; Elaïoplaste employé par BEER [7 bis), RACIBORSKY [123], GUILLIERMOND [69], RIVETT (129), POPOVICI [122]. Les termes d'éléosome ou oléosome, éléiplaste, ont également été employés.

Etant donné l'incertitude qui règne encore sur la composition chimique exacte des éléments oléifères et autres inclusions réfringentes osmiophiles des hépatiques, qui ne sont pas une substance définie mais certainement un mélange, il nous a paru sage d'adopter un terme assez général en rapport avec l'activité spéciale du paraplasma dont ces éléments semblent dépendre. P.-A. DANGEARD [38], dans une étude récente consacrée au vacuome des organismes inférieurs, a, en effet, proposé de nommer *Ergastome*, l'ensemble des formations réfringentes et osmiophiles qu'il a rencontrées souvent chez le *Chlamydomonas variabilis*, en une telle abondance qu'elle confinait parfois à la dégénérescence. P.-A. DANGEARD a désigné par ce terme des huiles et des graisses présentes dans le cytoplasme sans que ce mot Ergastome revête le caractère d'un système permanent.

Nous avons élargi à notre compte le terme d'Ergastome dont une partie devient un système constant. On verra par la suite et ce sera la conclusion de la première partie de ce travail, que nous avons été amené à scinder chez les hépatiques l'Ergastome en deux systèmes différents par leur origine et leur destinée, au cours de l'évolution cellulaire, nommés : 1° *Ergastome mobile ou actif* ; 2° *Ergastome immobilisé, passif ou différencié*.

L'ergastome mobile est constitué par les inclusions osmiophiles banales du cytoplasme susceptibles d'être utilisées par ce dernier ; l'ergastome différencié ou immobilisé représente les « oléocorps » des auteurs, produits d'excrétion définitivement fixés dans la cellule.

TECHNIQUES

1^o EXAMENS IN VIVO ET SUR LE FRAIS APRÈS ACTION DES RÉACTIFS EXTEMPORANÉS.

Dans les recherches concernant la spermatogénèse, nous avons rarement pu utiliser les méthodes d'examen *in vivo*, ou sur le matériel frais, sauf pour les stades extrêmes, c'est-à-dire, d'une part, pour l'étude de la spermatide ou de spermatozoïde mûr, d'autre part, pour celle des très jeunes anthéridies. Les anthéridies des stades moyens réalisent un très mauvais matériel pour l'observation directe, en raison des difficultés et de l'impossibilité même chez *Marchantia polymorpha* ou *Fegatella conica* de regarder quoi que ce soit, à l'immersion, sans écrasement préalable. La couche périphérique de cellules formant l'enveloppe de l'anthéridie est très fortement chlorophyllienne et se teint avec intensité par tous les réactifs. On ne peut non plus songer à dilacérer le tissu spermatogène qui demeure d'une extrême fragilité jusqu'au stade de spermatide.

Au contraire, dans tous les autres domaines, qu'il s'agisse de l'étude de l'ergastome ou du vacuome dans les spores ou les autres tissus des hépatiques, l'examen sur le frais, peut être pratiqué avec une assez grande facilité, en prenant certaines précautions fondamentales et en choisissant son matériel. Les principaux réactifs utilisés étaient le Gram, l'Eau iodée ordinaire, l'acide osmique à 1 pour 100, le Nitrate d'argent, à 5 pour cent, enfin et surtout les colorants vitaux (1). Nous avons beaucoup utilisé ces derniers dans la partie concernant la genèse de l'Ergastome.

1. Voir le travail de P. Dangeard (38 bis).

Les plus employés furent le rouge neutre, le bleu de crésyl, le *violet dalhia*, la chrysoïdine, le vert Janus de Hoechst. Ce dernier colorant vital, ne nous a jamais donné chez les hépatiques de colorations mitochondriales. Il ne colorait que le vacuome et moins bien que le rouge neutre.

En outre, nous nous sommes servi de la réaction du Bleu d'Indophénol pour la mise en évidence des inclusions osmophiles. Cette méthode imaginée par ZWEIBAU [158] pour la cytologie animale, appliquée par MANGENOT à la cytologie végétale, a été par la suite utilisée par de nombreux auteurs sur les matériaux les plus divers : CHADEFAUD [23] *Fucacées*; Karbush [80] *Etudes sur la résistance des blés à la rouille*; KUHNER [84], *Agaricacées*, SZYMANECK [140 bis] *Phytophloracées*; POPOVICI [121], *Ombellifères et Rutacées, etc.*

Ce colorant très précieux, parce que vital, n'a malheureusement par une grande spécificité. Il se peut qu'il agisse, dans certains cas, sur le matériel chromidien de la vacuole, sur certains composés phénoliques, et sur les oxydases.

Cette réaction dite de « l'indophénol » était d'ailleurs utilisée depuis longtemps pour la recherche des oxydases : FISCHER, WURSTER [156], ROHMANN et SPITZER [130], LILLIE [92], SCHULTZE [134], REED [124] s'en serviront à cet effet chez les végétaux et les animaux et avec une technique très peu différente, en somme, de celle que ZWEIBAU utilisa plus tard pour la recherche des corps gras. La réaction initiale détectrice des oxydases était obtenue par l'oxydation d'un mélange d'Alpha Naphtol et de Paraphénylène diamine avec une solution de Carbonate de soude.

Les granules d'indophénol pouvant précipiter spontanément sous l'influence des oxydases, il conviendra de se méfier et de comparer avec le matériel frais. D'autre part la réaction sera douteuse chaque fois que l'on aura affaire à des enclaves cytoplasmiques de taille trop faible pour que leur réfringence soit susceptible, en observation microscopique directe, d'indiquer leur nature oléagineuse ou grasse.

En outre, les différences de colorations obtenues selon qu'on a affaire à des lipoides, à des huiles, des essences, des résines, et variant du bleu au violet sont des tests inconstants et insuffisants.

En résumé, le Bleu d'Indophénol paraît colorer sur le vivant à peu près toutes les substances que l'Osmium colore *post mortem*. Néanmoins, malgré ces restrictions, ce colorant rend de grands services dans de nombreux cas, et notamment quand on veut préciser, dans les jeunes tissus où la visibilité est parfois mauvaise, le moment de l'apparition des jeunes éléments de l'ergastome différencié ou leur présence dans certaines spores.

Nous avons utilisé la formule suivante :

On prépare deux solutions dites A et B.

A) Chlorhydrate de diméthyl paraphénylène diamine
à 0,5 %.

B) Solution de Potasse à 33 %..... 0 gr. 5

Alpha Naphtol ou Thymol..... 0 gr. 5

Eau distillée..... 100 gr.

Au moment de l'emploi mélanger 1 cmc de A, 1 cmc. de B et 20 cmc. d'eau distillée. (Ces solutions ne se conservent pas.)

Nous avons employé le Rouge neutre en solutions de concentrations variables entre $\frac{1}{5.000}$ et $\frac{1}{15.000}$ dans l'eau distillée, qui donne de meilleurs résultats que l'eau de fontaine chargée en bases et provoquant une précipitation et un virage prématurés.

Nous n'avons jamais eu d'insuccès en employant le rouge neutre qui est évidemment le colorant idéal du vacuome. Des tissus embryonnaires sont demeurés intacts durant des laps de temps parfois très longs au sein d'une solution de rouge neutre, sans que nous ayons pu constater aucune altération due au colorant vital proprement dit.

Dans l'examen des extrémités de tiges feuillées, par exemple, les troubles qui finissaient par se manifester au bout de 5 à 7 heures d'observation, étaient plutôt dus à l'écrasement progressif de la préparation et à l'influence d'un milieu inusité, aquatique et mal aéré, qu'à une action nocive spécifique du colorant vital.

On verra cependant au chapitre concernant les rapports du vacuome et de l'ergastome les difficultés qu'il y a de séparer les primordia de l'ergastome différencié des éléments du vacuome. En effet le rouge neutre peut parfois colorer et coaguler des substances n'ayant aucun rapport avec les composés présents dans la vacuole.

Nos observations, avec colorations vitales, furent toujours réalisées en deux temps et progressivement, c'est-à-dire par examen préalable, sans colorant, puis en faisant progressivement arriver ce dernier sous la lamelle, sans cesser d'observer les tissus au moyen d'un dispositif approprié.

2^o MÉTHODES DE FIXATION.

Nous avons employé un très grand nombre de fixateurs pour l'obtention des coupes en série, dans nos études de cytologie générale ou dans celles se rapportant à la spermatogénèse. Nous avons essayé les mélanges fixateurs classiques de BOUIN, REGAUD, FLEMMING, LAGUESSE, CHAMPY, BATAILLON, ZENKER, HELLY, chromo-acétique, etc. Très souvent nous avons utilisé des formules empiriques obtenues par tâtonnements, et auxquelles nous nous sommes tenu quand elles donnaient de bons résultats.

Du BOUIN classique, dont on trouve partout la formule, nous ne dirons rien, c'est là un excellent fixateur, même pour les travaux concernant la spermatogénèse, mais nous ferons remarquer que les meilleurs résultats obtenus le furent avec un Picro-Formol sans acide acétique, les fixations d'anthé-

ridies devenant d'autant moins bonnes que la dose d'acide était accrue.

Le fixateur Picro-Formol pur (Formulé de Regaud), additionné ou non de traces d'acide acétique, pour en accroître la pénétration, a peu été utilisé jusqu'à présent à notre connaissance, dans les études de spermatogenèse, où le Fleming paraît, à lui seul, emporter tous les suffrages, bien que n'étant pas le plus fidèle des fixateurs, et le moins sûr certainement en ce qui concerne la mise en évidence des centrosomes chez les Hépatiques. Cependant le Picro-Formol pur paraît, abstraction faite de la fixation des divers éléments de l'Ergastome dont la conservation exige la présence d'acide osmique, réaliser un des types de fixateurs le plus complet qui existe. Il nous a permis d'observer : 1° des mitoses impeccables dans les cellules de la lignée spermatique ; 2° des centrosomes typiques à la dernière mitose ; 3° des plastes extrêmement nets à contours mieux délimités qu'au Regaud, plus faciles à différencier et moins empâtés à l'hématoxyline. Le Picro-Formol a moins de tendances que le Regaud à donner des grumeaux et des ponts reliant des éléments en réalité isolés ; la clarté des préparations est plus grande. Enfin, dans le cas où l'acide acétique est totalement absent, les éléments du cytome-chondriome sont conservés.

L'excellence de certaines fixations que nous avons obtenues par ce moyen ou avec le Formol dilué associé à l'acétate ou au Nitrate d'Urane en milieu isotonique ou non, est vraisemblablement due au Formol lui-même.

Dans les traités de cytologie, le Formol est rarement recommandé comme fixateur cytologique.

Mais NOEL et MANGENOT [113] ont vanté les qualités de ce fixateur universel qu'est le Formol, et même d'après ces deux auteurs, le Formol serait le seul à donner des images nucléaires exactes. Celles qu'ils ont obtenues concordaient exactement avec les excellentes descriptions de la LITARDIÈRE [93].

Voici d'après NOEL et MANGENOT [113] les caractéristiques des noyaux bien fixés tels qu'ils le sont par le Formol : « *nuc léoles nés, aire nucléaire homogène ou semée de grumeaux inconstants ; dans la mitose, les aspects des chromosomes sont parfaitement détaillés.* » Les solutions formolées auraient en outre l'avantage d'être des « fixateurs indifférenciés », c'est-à-dire conservant purement la cellule sans la modifier chimiquement d'une manière appréciable.

Nous avons aussi très souvent employé le Fixateur de Regaud formule IV.

Bichromate de Potassium à 3 %.....	4 parties
Formol du commerce	1 partie

Les propriétés du liquide de Regaud sont suffisamment connues pour qu'il soit nécessaire d'y revenir.

Le fixateur osmié le plus utilisé par nous, fut le mélange de Flemming faible ou fort avec ou sans acide acétique.

La formule couramment employée était : Acide Osmique à 1 p. 100 ou 1 2 parties, selon les cas, Acide Chromique à 1 p. 100 1 partie, acide Acétique de 0 à 5 gouttes pour 20 cmc., selon l'effet cherché. Pour terminer, citons la formule suivante dont nous nous sommes servi dans l'étude des éléments de l'ergastome, et qui nous a donné les meilleurs résultats :

Acide osmique à 1 p. 100 1 partie.

Bichromate de Potassium, de 1 à 3 parties, selon l'effet cherché.

Postchromer comme au Regaud.

Remarquons, en passant, que nous avons souvent imprégné à l'Osmium de 3 à 10 jours après les fixateurs osmiés.

Nous n'avons pas pu, sauf en ce qui concerne l'étude du vacuome, du plastidome et de l'ergastome contrôler, sur le vivant, les résultats obtenus par les procédés classiques de

fixation et d'inclusion. Certes, il eut été intéressant, surtout pour ce qui regarde les phénomènes nucléaires, d'obtenir des renseignements dans le matériel frais. P. MARTENS [97-98-99] a publié une série de travaux remarquables, comparant les structures nucléaires observables *in vivo* et après fixation. Ce savant discute la réalité de certains aspects tels que le tassement polaire proprement dit et l'existence des fibres fusoriales, mais admet que les structures nucléaires classiquement décrites, jusqu'à présent, correspondent à des faits objectifs et que le noyau ne saurait être considéré comme un milieu homogène.

Sans rien vouloir ôter aux droits de l'esprit critique qui doit naturellement présider à l'examen de toutes les images cytologiques, il a insisté et à juste raison, nous semble-t-il, sur ce fait que la terreur des artefacts, et beaucoup plus souvent le souci de marcher coûte que coûte au pas des théories colloïdales du protoplasme et du noyau, ne doivent pas conduire le cytologiste à un scepticisme quasi-universel concernant les figures observées.

Nous avons étudié la division nucléaire dans les éléments spermatogènes au moyen de très nombreux fixateurs et il nous a semblé que l'on aboutissait en effet à des résultats à peu près concordants si l'on avait soin de toujours tenir compte de l'effet spécifique des réactifs et des faibles variations dans l'action de ces derniers, qui ne manquent pas de se produire, quels que soient les soins qu'on apporte à opérer dans des conditions toujours identiques.

Cependant, les phénomènes caryocinétiques ne sont pas toujours aussi simples et schématiques qu'on se l'imagine. Il y a, il faut le dire, dans les tissus spermatogènes où nous avons observé des centaines de mitoses, une très grande richesse de stades intermédiaires dont a souvent grand'peine à démêler la chronologie, et surtout des variations assez grandes dans les processus de la prophase et, dans l'état du matériel chromatique au moment de la métaphase qui peut

se présenter sous la forme de chromosomes épais, ou de chromosomes filamenteux.

G. YAMAHA, dans un travail extrêmement complet concernant l'action d'une grande quantité de corps utilisés comme agents fixateurs, a donné des reproductions photographiques des images obtenues. Il a étudié constamment le même matériel, et l'usage de techniques différentes lui a donné des images très différentes.

S'il existe une base minimum de faits sur lesquels tout le monde est d'accord, en ce qui concerne le déroulement des phénomènes mitotiques, il existe dans le détail (et pour des détails qui ont leur importance, lorsqu'il s'agit des centrosomes, par exemple), de profondes divergences d'interprétation.

On ne s'étonnera plus, en consultant les photographies de Yamaha qui constituent une école de philosophie et d'indulgence, de l'état anarchique dans lequel se trouve actuellement la théorie de la Spermatogénèse végétale que les auteurs travaillèrent avec des techniques et des matériaux constamment et presque systématiquement différents.

PÉNÉTRATION DU FIXATEUR, DURÉE D'ACTION, INCLUSION, ETC.

Nous avons toujours opéré de façon à obtenir une vitesse de pénétration maxima. D'autre part, nous avons réussi de très bonnes fixations dans des temps très courts. Les objets à fixer étaient mis dans un tube placé lui-même dans un vase relié à la trompe à eau, suffisante pour créer le vide relatif destiné à éliminer les bulles d'air et hâter la pénétration du réactif (1). La durée d'action du vide était par exemple de 5 minutes pour les fragments de thalle, 15 minutes pour les chapeaux de *Marchantia*, 20 minutes pour les sporogones mûrs de *Pellia* très difficiles à imprégner.

1. Voir CHAMBERLAIN (25).

Les temps classiques de fixation sont de 24 heures pour le BOUIN, 48 heures pour le FLEMMING. Mais, dans de nombreux cas, il nous a été possible de les réduire considérablement, à un quart d'heure et même cinq minutes pour le BOUIN, à une heure pour le FLEMMING. Le REGAUD a toujours été exécuté classiquement par 3 jours de fixations suivis d'une quinzaine de postchromisation.

Quelques mots seulement sur les opérations de lavage, d'inclusion et de coloration. Bouin : court lavage, de seulement, 5 à 30 minutes, un long lavage étant préjudiciable à la conservation des structures. Flemming : 6 heures. Regaud : de 12 à 24 heures, selon la durée de la postchromisation.

Nous ne décrivons pas les opérations relatives à l'inclusion. Nous signalerons seulement que les temps de passage dans les différents alcools étaient réduits au minimum. Le passage de l'alcool à 70° à l'alcool à 100°, se faisait en 3 ou 4 heures, et la déshydratation proprement dite comprenait 3 bains d'absolu d'une durée totale d'une heure. Le milieu utilisé était soit le Xylol, soit l'Essence de cèdre durcissant moins le matériel végétal.

Paraffine à 55°-57°, 3 bains d'une durée totale de 1 à 24 heures selon le matériel.

Colorations (1) : 1° Hématoxyline au fer de HEIDENHAIN.

2° Triple coloration de Prenant.

3° Triple coloration de Mallory.

4° Triple coloration de Cajal.

5° Triple coloration de Flemming.

6° Double coloration fuchsine acide-vert Lumière. (Colorer à chaud avec fuchsine acide en solution anilino-alcoolohydro-chlorhydrique, laver à l'eau chlorhydriquée, différencier, de quelques secondes à 1 minute, avec vert lumière aqueux. Laver à l'eau distillée. Absolu directement, etc.).

1. Voir Langeron (87) : *Precis de microscopie*. CHAMBERLAIN (25), *Methods in Plants Histology*.

CHAPITRE PREMIER

DESCRIPTION GÉNÉRALE DE LA CELLULE DES HÉPATIQUES

A la connaissance de la cellule des hépatiques se rattachent les noms de très nombreux botanistes et l'étude de ces cryptogames a puissamment contribué à faire avancer nos connaissances de cytologie générale.

Qu'il s'agisse des constituants de la cellule ou des phénomènes généraux de la sexualité, on rencontre à côté des grands problèmes de l'évolution nucléaire, de l'indépendance du plastidome, de la spermatogénèse, les noms célèbres de HOFMEISTER, STRASBURGER, GUIGNARD, IKENO, FARMER, MOTTIER, SCHERRER, SAPEHIN DANGEARD, ALLEN, SHARP, et de tant d'autres bien connus de tous ceux qui se sont occupés de cytologie végétale.

Le groupe des hépatiques a donc fourni, jusqu'à présent, un contingent d'observations des plus importants et l'on s'explique assez la vogue dont jouissent ces végétaux auprès des chercheurs, si l'on se souvient de la place qu'ils occupent dans la classification, des structures et des phénomènes particuliers qu'on y rencontre, enfin des facilités relatives de travail qu'ils permettent, qualités qui contribuent à en faire un matériel de choix.

Si l'on fait une coupe dans le thalle d'une *Marchantiée* ou si l'on examine une feuille de *Jungermanniée*, généralement assez mince pour permettre l'observation directe, on remarque, au premier abord, une profonde différence qui semble

complètement séparer les deux types de structure cellulaire.

Nous avons pris par exemple un fragment de thalle de *Marchantia polymorpha*, et la phyllidie de *Madotheca platyphylla*.

Dans les deux cas, les cellules renferment des plastes, des vacuoles délimitées par des trabécules cytoplasmiques plus ou moins importants, et un noyau dont la visibilité est extrêmement variable selon les espèces et l'état végétatif des échantillons. Il existe, en outre, dans toutes les cellules de *Madotheca*, une catégorie spéciale d'éléments qui semblent être absents de celles de *Marchantia*. Ce sont des corpuscules fusiformes, très différents des plastes, parfaitement incolores, très réfringents, et au nombre d'une vingtaine, en moyenne, par cellule. Ce sont là les « oléocorps » des auteurs, et leur ensemble en vertu de la terminologie que nous avons précédemment décidé d'adopter, appartient à l'*ergastome passif* ou *différencié*.

En réalité, le *Marchantia polymorpha* possède des éléments ergastomiques analogues mais, dans cette dernière Hépatique, ils revêtent un aspect différent de celui sous lequel nous les avons rencontrés chez les Jungermanniées, car ils n'existent pas dans toutes les cellules. Ils sont cantonnés dans un nombre restreint d'entre elles, qui ont pour fonction unique d'élaborer des corps volumineux jamais réfringents et généralement fortement colorés, à l'état adulte.

La caractéristique fondamentale de la cellule des Hépatiques réside, par conséquent, dans la présence de cet ergastome différencié très différent des petites inclusions labiles de l'ergastome mobile, et représenté par un ou plusieurs éléments existant dans quelques-unes ou dans toutes les cellules.

C'est ce qui peut contribuer d'ailleurs, outre les différents autres caractères connus auxquels on fait généralement appel, à différencier fortement les Hépatiques des Muscinées, Sphagnées et Andraeacées. L'existence d'un ergastome immo-

bilisé, et passif doit donc être envisagée comme une propriété particulière du protoplasma de ces cryptogames. Ce n'est certes pas le mode de vie qui a conditionné uniquement chez ces végétaux l'existence d'un appareil sécréteur spécial, étant donné que les Muscinées en sont dépourvues bien qu'ayant un habitat tout à fait analogue. Toutes les hépatiques paraissent en être pourvues, si l'on s'en rapporte à la bibliographie. Cette affirmation est peut être un peu téméraire puisqu'elle ne porte que sur une centaine d'Hépatiques environ où les auteurs ont décrit des « oléocorps » avec précision.

Il est probable que la majorité des hépatiques en renferme cependant, car les observations dont nous disposons portent sur les groupes différents des Jungermanniées, Marchantiées, Ricciées, Pelliées.

Il serait souhaitable que les systématiciens appelés à manipuler de nombreuses espèces d'hépatiques apportent leur importante contribution à un travail de vérification de la constance d'un caractère cytologique.

Ce travail qui ne peut être l'œuvre d'un seul aurait double importance : il renseignerait sur l'homogénéité de la série des hépatiques et ses affinités, si l'on établissait exactement quels sont les ou les groupes d'hépatiques qui paraissent dépourvus d'oléocorps, et fournirait de plus un contingent non négligeable de caractères pouvant servir à la classification.

Au premier abord, les oléocorps paraissent se ressembler, mais un examen plus attentif montre qu'on peut trouver, entre les différentes espèces, un assez grand nombre de caractères permettant de les différencier.

On pourrait adopter le plan suivant :

- Présence ou absence. A dans toutes les cellules ;
 B dans certaines cellules spécialisées.
- Coloration.....
- Constitution..... A) Simple ou { I Micromûriforme
 B) Mûriforme [1] } II Macromûriforme

Forme.

Dimensions.

Nombre moyen dans la cellule.

Position dans la cellule.

Variations particulières de forme (polymorphisme : ex *Frullania tamarisci*).

Etat dans les jeunes cellules.

Réactions particulières de coloration.

Certaines hépatiques, comme *Anthoceros lævis* par exemple, ne renferment pas d'Ergastome différencié, d'autres, comme *Melzgeria furcata*, possèdent des éléments particuliers noircissant peu ou pas par l'Osmium et plus assimilables au cytome qu'à l'ergastome.

Les « oléocorps » n'ont cependant pas toujours une forme constante. En dehors de très légères variations observables dans des hépatiques de même espèce et que l'on peut faire accroître par l'influence du milieu, il peut exister un polymorphisme réel et spontané. On constate des différences portant sur le nombre et la forme de ces éléments, selon la région du thalle où on les observe. C'est, par exemple, le cas de *Frullania tamarisci*, où les systématiciens ont remarqué depuis très longtemps l'existence, dans les feuilles, d'une ou deux files de cellules à contenu plus coloré que les cellules environnantes ; ces cellules spéciales renferment un seul ergastosome géant au lieu de trois à cinq et représentent une sorte de fausse nervure embryonnaire. On trouve, dans la feuille de *Diplophyllum albicans*, une fausse nervure analogue mais bien développée et dont les cellules renferment des éléments de l'ergastome différencié plus gros et plus abondants que ceux des autres cellules.

L'ergastosome unique des cellules spéciales de *Frullania tamarisci* occupe presque tout le volume cellulaire et rappelle un peu, par son aspect, l'ergastosome unique des cellules de *Marchantia polymorpha* et de *Radula complanata*.

Existe-t-il un rapport entre la forme de la cellule des hépa-

tiques et les oléocorps qu'elles contiennent ? De façon générale, quelles sont les relations entre la structure anatomique de l'hépatique et sa structure cytologique ? Nous verrons, à la fin de ce travail, cette question réapparaître d'ailleurs, sous une autre forme, quand nous formerons, en passant, une hypothèse afin d'expliquer le fait que certaines hépatiques renferment de l'amidon et d'autres peu ou pas.

Plusieurs auteurs et P. DOMBRAY [46], en particulier, se sont occupés de cette question. DOMBRAY a insisté sur le parallélisme des modifications anatomiques et des modifications subies par les « oléocorps », sous l'influence du milieu. Ainsi chez les Marchantiées, la vie en milieu humide provoque un accroissement vertical du thalle et une diminution du nombre des oléocorps. Ces derniers constitueraient une adaptation à la vie xérophyte. Les hépatiques auraient donc réagi, en vue d'une adaptation à l'existence en milieu relativement sec, d'une façon toute différente des Mousses dont l'« appareil de résistance » est conditionné par des caractères *extérieurs* à la cellule ; petites feuilles généralement, membranes très épaisses, etc. L'« appareil de résistance » à la sécheresse serait donc, chez les hépatiques, une réponse particulière et directe du protoplasme.

L'hypothèse de DOMBRAY et la nôtre auraient encore plus d'intérêt si l'on pouvait expliquer, par quel mécanisme, la production abondante d'huiles essentielles ou de graisses favorise l'adaptation à une existence xérophyte. Nous verrons plus loin, en étudiant la genèse de l'ergastome différencié, comment cette action pourrait s'expliquer.

La cellule des Hépatiques possède des vacuoles qui, dès les premiers instants du développement, acquièrent une forte importance. Qu'il s'agisse des Marchantiées, ou des Jungermanniiées on ne manque jamais, à l'observation microscopique de ces cryptogames, d'être frappé de la faible quantité de protoplasme que renferment les cellules. Ce der-

nier est d'ailleurs généralement absolument homogène dans les cellules somatiques et n'évoque rien de semblable à celui des Spirogyrées ou des Characées, par exemple. Il perd cependant son homogénéité dans l'œuf, les cellules apicales, les très jeunes rhizoïdes, etc. (1), c'est-à-dire dans toutes les cellules qui manifestent une suractivité quelconque. Cette sorte de décantation et de « purification » du cytoplasme, par ségrégation des substances ergastiques diverses, semble être un signe d'activité ralentie ou de sénescence. Pour en revenir au développement considérable du vacuome, il semble évident que ce fait est dû au mode de vie de ces végétaux qui accumulent des quantités considérables d'eau.

L'ergastome est représenté par des formations de deux natures. Les unes sont de gros éléments figurés de forme constante selon l'hépatique envisagée, simples ou mûri-formes, avec des modalités sur lesquelles nous reviendrons avec plus de détails. Les autres formations osmiophiles qu'on rencontre dans le cytoplasme des hépatiques sont de simples sphérules de dimension très variable. D'après P. DOMBRAY [46] ces sphérules éparses dans le protoplasme seraient les graisses et l'ergastome différencié, c'est-à-dire les « oléocorps », seraient des huiles essentielles. L'ergastome différencié peut se trouver mêlé aux plastes dans la couche pariétale, mais on le rencontre également en abondance dans de très fins trabécules presque invisibles sur le frais sans l'action des réactifs, si bien qu'il est, dans ce cas, suspendu à l'intérieur des vacuoles, du fait du développement considérable de ces dernières, sans leur appartenir toutefois précisément. Dans ce cas les « oléocorps » sont très souvent pourvus de mouvements, d'ailleurs extrêmement limités, signalés par les auteurs et en particulier par P. DOMBRAY (2). Mais P. DOMBRAY estime que les oléocorps de *Plogiochila asple-*

1. Nota : Dans tous ces organes l'ergastome mobile en particulier est très abondant.

2. p. 37.

nioides, par exemple, sont situés dans un protoplasme abondant. On s'expliquerait mal ces mouvements dans un « protoplasme abondant », alors que les plastes et même les plus fins parmi les sphérules cytoplasmiques (cytosomes, globules oléagineux, etc.), demeurent toujours immobiles. C'est que, le plus généralement, qu'il s'agisse de *Plagiochila asplenoides*, de *Frullania tamarisci*, de *Madotheca platyphylla*,

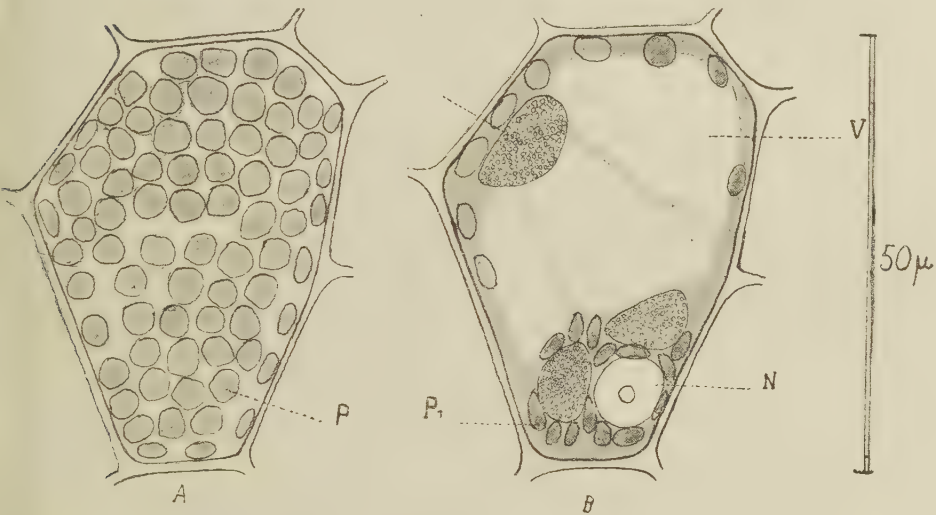


Fig. A. — *Chiloscypus polyanthus* var. *erectus* Boulay.

Celules du thalle.

A, Mise au point superficielle ; B, Mise au point profonde ; P, Plastes ; N, noyau, V, vacuoles ; E, ergastome différencié.

Chiloscypus polyanthus, etc., les éléments de l'ergastome différencié sont situés dans de fins trabécules qui oscillent dans d'importantes vacuoles, quand ils n'appartiennent pas aux couches pariétales. C'est ce que l'examen des coupes fixées permet de reconnaître.

Nous avons, au cours de nos recherches, examiné un grand nombre d'hépatiques appartenant aux principaux groupes.

Parmi ces hépatiques, il en est qui ont déjà bénéficié des travaux de P. DOMBRAY. On verra plus loin que nos résultats diffèrent sensiblement de ceux de cet auteur.

Nous n'avons pas consacré un temps égal à l'étude de chacune de ces hépatiques et nous ne décrirons pas, pour chaque cas particulier, les phénomènes observés : on trouvera dans le prochain chapitre concernant nos recherches personnelles sur l'ergastome différencié étudié dans ses rapports avec le vacuome, la description succincte des faits les plus remarquables.

Les Hépatiques qui ont fait l'objet de recherches et d'observations spéciales de notre part, sont indiquées d'un astérisque.

JUNGERMANNIÉES ACROGYNES (1).

Tribu des Jubulées : *Frullania tamarisci**.

Frullania dilatata.

*Lejeunea serpilyfolia**.

Tribu des Madothécées : *Madotheca platyphylla**.

— *Radulées* : *Radula complanata**.

— *Scapaniées* : *Sapania nemorosa**.

*Diplophyllum albicans**.

— *Blepharaziées* : *Blepharostoma trichophylla*.

Trichocolea tomentella.

— *Cephaloziacées* : *Lepidozia reptans*.

*Calypogeia trichomanis**.

Calypogeia arguta.

Cephalozia compacta.

Cephalozia connivens.

Pleurochisma trilobatum.

— *Lophoziacées* : *Chiloscyphus polyanthus* var *erectus**.

*Lophocolea bidentata**.

*Lophocolea minor**.

*Plagiochila asplenoides**.

Lophozia Schultzii.

Lophozia lycopodioides.

Lophozia gracilis.

(Ou *Jungermannia attenuata*.)

*Aplozia cordifolia**.

Marsupella apiculata.

JUNGERMANNIÉES ANACROGYNES

Tribu des Fossombroniées (2) : *Pellia epiphylla**.

Pellia fabroniana

1. Détermination et classification d'après HUSNOT (75) *Hepaticologia Gallica*.

2. Au dernier moment nous avons pu examiner *Fossombronia cristata** grâce à l'obligeance de M. G. CHALAUD qui nous a envoyé quelques échantillons.

- *Metzgeriées* : *Metzgeria furcata**.
 *Aneura pinguis**.
 *Aneura multifida**.

MARCHANTIACEES.

- Tribu des Marchantiées* : *Marchantia polymorpha**.
 Marchantia paleacea.
 *Fegatella conica**.
 *Lunularia cruciata**.
 Reboulia hemisphaerica.

- Tribu des Targioniées* : *Targionia hypophylla*.

- *Ricciées* : *Riccia glauca*.
 Riccia fluitans.

ANTHOCEROTACEES. *Anthoceros laevis**.

Cette dernière hépatique, qui ne possède pas d'ergastome différencié, ne renferme également que, peu ou pas, selon les individus, de substances réfringentes osmiophiles en général (1).

Nous avons donc examiné trente-huit hépatiques différentes, dont nous venons de faire l'énumération. On comprendra facilement que nous ayons été obligé de faire, parmi elles, un choix motivé, d'une part par des considérations pratiques et techniques, d'autre part par la nécessité de ne prendre ici que les exemples les plus typiques où les phénomènes pouvaient être suivis avec le plus de fruit.

Etant donné l'importance particulière que prend l'ergastome différencié chez les Hépatiques et particulièrement chez les *Jungermanniacées*, il est compréhensible que, dans une certaine mesure, l'évolution des connaissances sur la structure des cellules somatiques des hépatiques, ait toujours marché de pair, avec l'évolution du problème de l'origine des « oléocorps ». Il n'est guère qu'une hépatique qui ait été étudiée à part, à ce point de vue, c'est l'*Anthoceros laevis*.

Nous avons rencontré cette hépatique aux environs de Paris (Champs aux environs de Presles, dans l'Oise), mais malheureusement les échantillons ne portaient en général

1. Sauf dans les spores.

que des sporogones parfaitement mûrs, et étaient en assez mauvais état, à l'approche de l'hiver. C'est d'ailleurs seulement, à la fin de notre travail, que nous avons disposé en abondance de ce matériel dont nous n'avons pu faire une étude aussi complète que nous l'aurions voulu, le temps nous faisant défaut.

Ce qui ne manque pas de frapper celui qui examine, d'un coup d'œil rapide, les diverses théories émises jusqu'à ce jour sur l'origine des éléments oléifères, pour essayer d'en faire un ensemble cohérent, c'est leur extrême variété, et la confusion des opinions formulées à ce sujet.

P. DOMBRAY, serait arrivé à des conclusions plus précises que celles de ses devanciers, en ce qui concerne le délicat problème de la composition chimique.

Si nous admettons la présence d'huiles essentielles dans les « oléocorps » nous ne nous montrons pas aussi affirmatif que P. DOMBRAY en ce qui concerne la localisation exclusive des graisses dans les sphérules cytoplasmiques ordinaires. Le même auteur nie de plus que les éléments de l'ergastome différencié puissent posséder un substratum protéique. On verra ce qu'il faut penser de cette opinion au cours de l'exposé de nos propres recherches. La constance de forme de ces éléments, à travers toutes les vicissitudes de l'évolution des trabécules cytoplasmiques où ils sont contenus, l'action des fixateurs, permettent au contraire de supposer que ce substratum existe au moins au début de la sécrétion par le cytoplasme.

S'il existe des tanins, ces derniers sont localisés dans la vacuole, et accessoirement peut-être dans les oléocorps eux-mêmes. L'ergastome différencié, surtout parvenu à l'état adulte, peut absorber divers composés qui modifient considérablement les réactions qu'on opère sur lui. Le phénomène est particulièrement net pour les volumineux « oléocorps » de *Radula complanata* qui possèdent certainement cette fonction accumulatrice. DOMBRAY a signalé une forte

réaction des tannoïdes comme un phénomène général. D'autre part, (nous en reparlerons dans le prochain chapitre) les oléocorps de *Radula* prennent fortement le rouge neutre, bien que n'ayant aucun rapport avec le vacuome. Cette coloration des éléments de l'ergastome différencié semble d'ailleurs avoir souvent induit en erreur P. DOMBRAY.

L'ergastome différencié adulte a une composition mixte extrêmement variable, c'est ce qui expliquerait l'imprécision des réactions et le désaccord des auteurs : il constituerait une sorte d'appareil d'accumulation et de fixation par immobilisation à l'intérieur de la cellule : Ce serait en quelque manière une sorte d'appareil excréteur.

Michel DURAND [106] a fait une étude complète des composés taniques. Il est regrettable que ce chercheur, à l'opinion autorisée, n'ait point donné de renseignements sur les tanins des hépatiques très abondants, s'il faut en croire P. DOMBRAY. D'après Michel DURAND, le tanin serait toujours normalement contenu dans la vacuole et diffuserait seulement *post mortem* vers les membranes et les autres parties de la cellule, ce qui peut donner lieu à des erreurs d'interprétation. Pour certains auteurs, le tanin existerait sous forme de sel et à l'état huileux, pour d'autres, sous forme soluble et à l'état de granules. Ce dernier cas pourrait être celui de *Radula* et de nombreuses hépatiques, si la présence des tanins dans les éléments de l'ergastome différencié venait à être démontrée comme un fait absolument général.

Nous avons essayé la plupart des réactions indiquées par P. DOMBRAY (1), et il faut avouer que les résultats extrêmement inconstants ne permettent aucune conclusion ferme.

LLOYD, et plusieurs autres auteurs, (cités d'après MICHEL-DURAND) ont constaté, par la suite, de nombreuses anomalies dans l'action des réactifs sur les tannoïdes : les réactions seraient souvent empêchées par la présence, dans les cel-

1. P. 73-80, etc.

lules à tannin, d'une substance absorbante qui présente les propriétés physiques d'un gel. Le tanin pourrait donc être libre dans les cellules ou adsorbé par un complexe ternaire de la nature des mucilages ou des composés celluloseux.

Des phénomènes analogues, intervenant, pour masquer les réactions, pourraient se produire dans la cellule des hépatiques. Nous n'insisterons pas sur ce sujet, notre but n'étant pas précisément l'étude chimique des formations ergastomiques, et nous concluons à la nécessité de nouvelles recherches.

La première observation des volumineux ergastomes des hépatiques paraît remonter au célèbre Botaniste MIRBEL [105] qui constata, dans certaines cellules du *Marchantia polymorpha*, la présence de *vésicules probablement amy-lacées*. MIRBEL a même représenté ces formations dans les planches de son admirable mémoire sur le *Marchantia* qui constitue une des bases de la théorie cellulaire.

Dans le courant du siècle dernier, de nombreux biologistes signalèrent la présence d'oléocorps dans des hépatiques très diverses, et plusieurs interprétations de leur origine furent proposées.

PRESCHER [122 bis] les assimilait à des formations mucilagineuses intra-cellulaires, PFEFFER [118] les considérait comme composées d'huiles, tandis que LOHMAN [93 bis] rattachait leur existence à la production d'huiles essentielles. PFEFFER [118], WALKER [147], KUSTER [85], admettaient que ces éléments avaient un substratum plasmatique, ce que MEYER [100], et GARGEANNE [58] niaient formellement.

GARGEANNE a eu le grand mérite d'attirer l'attention sur les rapports de l'ergastome et des vacuoles, mais malheureusement sa conception manquait de bases cytologiques suffisantes, faute de méconnaître l'exacte signification du vacuome. En effet, il attribuait la production des huiles à la présence d'un prétendu *tonoplaste* limitant la vacuole. On sait qu'il

n'existe aucune formation de cet ordre autour de la vacuole.

P. DOMBRAY [46] a exploité à son compte, la théorie de GARGEANNE de l'origine vacuolaire des « oléocorps » en la systématisant à l'extrême et en tâchant de la faire accorder avec la conception moderne du vacuome. On verra plus loin que nous avons modifié la théorie de DOMBRAY. Cet auteur a critiqué, d'ailleurs à juste raison, les théories qui faisaient naître les éléments oléifères, des plastes et en particulier l'étrange système de KOZLOWSKY [83]. En effet, on ne voit jamais, comme le pensait KOZLOWSKY, des globules réfringents sortir des plastes et s'accumuler pour donner des « oléocorps ». Les inclusions osmiophiles des plastes sont toujours de très faible taille, et chez *Diplophyllum albicans*, par exemple on trouve à côté des éléments de l'ergastome différencié, surtout dans les cellules allongées de la pseudo-nervure des feuilles, de nombreuses gouttelettes réfringentes se groupant parfois en agglomérations artificielles et inconstantes dues au hasard. Les aspects plus ou moins mûriformes obtenus dans ce cas ne peuvent pas être homologués aux oléocorps *sensu stricto*. Ces cellules sont déjà sénescences et dans les jeunes tissus du *Diplophyllum albicans* la formation de l'ergastome différencié se fait toujours par un mécanisme analogue à celui que nous décrirons et qui semble commun à toutes les Jungermanniées.

Quant à l'origine directement plastidomique des oléocorps, aucune preuve n'en a jamais été fournie. Certes, beaucoup d'oléocorps diffèrent peu des plastes lorsqu'ils sont jeunes, surtout dans les hépatiques où ces derniers sont peu chlorophylliens, mais il n'y a là qu'une ressemblance toute extérieure et grossière qui s'évanouit par une observation un peu plus attentive. Les plastes existent dans les jeunes tissus antérieurement aux oléocorps, il est facile de les compter, et dans aucun cas, après la formation de l'ergastome différencié on n'assiste à une diminution du nombre des chromatophores comme cela devrait avoir

lieu si ceux-ci subissaient une transformation aussi profonde.

De nombreux auteurs, de façon plus générale, se sont occupés de l'origine des graisses, des huiles, des essences, et de toutes les inclusions réfringentes osmiophiles du cytoplasme.

Certains ont voulu assimiler les corps rencontrés dans certains tissus de quelques Monocotylédones et nommés élaïoplastes aux corps « oléiformes » des hépatiques. Ces formations ont été étudiées par BEER [7 *bis*], RACIBORSKY [123], GUILLIERMOND [67], POLITIS [118 *bis*], OWOYCISKY [146], MIRANDE [102-103-104]. Il ne semble pas, malgré certaines analogies, que le problème soit le même pour les formations osmiophiles des Monocotylédones et des Hépatiques.

On ne sait d'ailleurs cytologiquement parlant, que très peu de choses sur les élaïoplastes des Monocotylédones dont l'origine n'a jamais été absolument tirée au clair.

GUILLIERMOND [69] leur a cependant assigné une origine cytoplasmique, et WOYCISKY [146] qui a étudié récemment les oléoplastes de l'*Ornithogalum caudatum*, ne paraît pas arriver à des conclusions bien précises.

Nous ne citerons que pour mémoire, les « stérinoplastes » découverts par MIRANDE dans les écailles du bulbe de *Lilium candidum*. Cet auteur s'est d'ailleurs attaché plus au côté morphologique et chimique de la question qu'au problème de l'origine de ces organites. La constitution de ces stérinoplastes serait la suivante : une partie externe ou « manteau » de nature protéique, d'après les diverses réactions faites par l'auteur, et une partie interne lipodique, constituée par de la cholestérine, ou plus exactement encore par de la liliostérine.

M. MIRANDE assimile généralement ces formations à des plastes, bien qu'il ait prononcé le terme de vacuole dans

une de ses notes. Il ne paraît pas que le mode de formation de ces stérinoplastes ait été définitivement établi, et il faudrait justifier le terme de *Mirande* en montrant les rapports exacts des stérinosomes avec le vacuome et le plastidome. GUILLIERMOND, d'ailleurs, avait vraisemblablement observé des éléments analogues dans la *Tulipe*.

RIVETT [129], dans un mémoire que P. DOMBRAY [46] ne paraît pas avoir connu, attribuait aux huiles essentielles des hépatiques une origine vacuolaire.

POLITIS [119], soutint de façon générale l'origine mitochondriale des essences combattue par MOREAU [107], GUILLIERMOND et MANGENOT [70], P. DOMBRAY [46], GAVAUDAN [60, 61 a et b] et POPOVICI [120-121-122].

POLITIS en 1921 assigna en effet aux essences une origine mitochondriale. D'après cet auteur les mitochondries (diverses *Labiées* et *Géraniacées*) élaboreraient des composés tanniques donnant ultérieurement naissance aux essences.

GUILLIERMOND et MANGENOT ont coloré par la méthode au bleu d'indophénol les gouttelettes d'essences contenues dans le cytoplasme des poches et canaux sécréteurs d'*Ombellifères*, *Composées*, *Rutacées*. Les auteurs s'expriment ainsi : « Il est à remarquer que dans ces cellules, les tannoïdes font défaut, ce qui semble démontrer l'absence de rapports entre ces substances et les essences. »

POPOVICI [120] en 1925 reprenant la question de l'origine des essences chez *Philodendron*, *Kleinia*, *Parthenium*, *Dahlia*, *Glechoma*, *Quercus*, etc., est arrivé à des conclusions analogues à celles des précédents auteurs, s'accordant avec eux pour attribuer aux essences une origine cytoplasmique. POPOVICI, après RIVETT et GUILLIERMOND, ~~contrairement aux idées de Moreau~~, dénia aux mitochondries le rôle élaborateur d'essences s'appuyant sur les résultats de la méthode MEVES-KULL, après laquelle les essences ressortent en brun dans les préparations, les mitochondries en rouge, sans que les deux

systèmes présentent jamais entre eux aucun rapport. Les essences, d'après cet auteur, apparaîtraient dans le cytoplasme dans les cas étudiés, comme dans les laticifères.

Chez *Chelidonium*, les essences naîtraient également de la même façon ainsi que chez *Ficus carica* où elles sont ultérieurement évacuées dans la vacuole.

POPOVICI [122] a étendu sa conception aux hépatiques (études sur *Lunularia cruciata* et *Pellia epiphylla*) en se ralliant à la première interprétation de la genèse des éléments oléifères que nous avons donnée et que les travaux de BERGDOLDT [9] cité d'après Woycisky, dont nous n'avons pris connaissance qu'indirectement, paraissent avoir également confirmée.

On verra que dans le présent mémoire nous avons été amené à modifier, dans une certaine mesure, après des études très serrées poursuivies sur le vivant, notre première manière de voir.

Mais les raisons invoquées par POPOVICI chez *Lunularia* et *Pellia*, ne sont pas suffisantes par elles-mêmes, pour écarter définitivement la théorie de P. DOMBRAY.

Il n'existe qu'un seul moyen véritablement sûr pour indiquer irréfutablement l'origine des oléocorps des Jungermanniacées dont toutes les cellules adultes renferment un ergastome adulte différencié, c'est de s'adresser à des tissus extrêmement jeunes à partir de la cellule apicale. POPOVICI, n'a observé, semble-t-il, et surtout dans le cas de *Pellia epiphylla* que des oléocorps adultes, sinon assez âgés, c'est-à-dire ceux que renferment les cellules des pédicelles de sporogones parvenus à maturité. L'élection de ce matériel, en vue d'obtenir des preuves définitives n'est pas très heureux, car si les pédicelles constituent bien « un matériel de choix » au point de vue des facilités d'examen immédiat que confère leur grande transparence, ils ne renferment, à l'état adulte, qu'un ergastome différencié parvenu à l'apogée de son développement. Il semble, d'après la figure « M » du mémoire de POPO-

vici, que cet auteur ait précisément examiné de tels pédicelles. Pour avoir des renseignements plus exacts, il eut été nécessaire de s'adresser à de très jeunes pédicelles ; or on sait que ces derniers demeurent assez longtemps à l'état d'un très court massif qui se développe ensuite rapidement par un allongement considérable de ses cellules. Dans ce petit massif compact la visibilité est très défectueuse, et d'ailleurs c'est encore beaucoup plus tôt, qu'il faudrait y chercher l'origine des éléments oléifères, car ces derniers sont déjà bien développés (Pl. VI, fig. 9 et 12.)

L'étude de ces éléments presque adultes ne peut nous être d'aucune utilité du point de vue qui nous occupe, car il ne faut pas confondre les termes : « situation à un instant donné d'un élément du cytoplasme » et « origine de ce même élément ».

Les observations de POPÓVICI sur *Lunularia* sont également criticables. L'auteur représente de très jeunes cellules de propagules renfermant des primordia d'ergastosomes différenciés et colorées vitalement par le Rouge neutre ; mais on voudrait voir une représentation de cellules encore plus jeunes pour acquérir une véritable certitude.

Ce n'est point là une critique portant sur « une pointe d'épingle », comme on pourrait le croire, étant donné la façon absolument affirmative avec laquelle DOMBRAY prétendait avoir résolu le problème.

Pour admettre ou infirmer définitivement la théorie GARGEANNE-DOMBRAY, il est indispensable de ne rien laisser derrière soi dans l'évolution du vacuome, car un partisan de cette hypothèse, même en présence de figures montrant la coexistence et la séparation des deux systèmes vacuolaire et ergatomique, aura toujours la ressource d'objecter, tant que des tissus plus jeunes n'auront pas été examinés, qu'une partie du réseau vacuolaire s'étant différenciée de bonne heure dans le sens de la production d'essences et d'huiles, on peut très bien observer par la suite des oléocorps et

un vacuome en apparence sans liaisons avec ces derniers.

Notre but dans ce travail a été de faire une étude très complète de l'évolution du vacuome dans les cellules ne renfermant pas encore d'ergastome différencié.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE II

Rapports du vacuome et de l'ergastome chez quelques Hépatiques.

Nous étudierons dans ce chapitre les rapports du vacuome et de l'ergastome dans les cellules de la tige feuillée de *Madotheca platyphylla*, *Radula complanata*, *Plagiochila asplenioides*, *Lophocolea minor*, *Chiloscyphus polyanthus* var. *erectus* Boulay, et dans le thalle de *Pellia epiphylla*.

1° *Madotheca platyphylla*.

L'étude de cette seule hépatique, sur laquelle ont porté nos premières recherches, suffit à elle seule à définir clairement, comme on le verra, les rôles respectifs que jouent le vacuome et le cytoplasme dans l'élaboration de l'ergastome différencié.

P. DOMBRAY a représenté dans sa planche II (fig. 3) des « oléocorps » mûriformes dans les cellules de *Madotheca*. Ils nous ont semblé au contraire être toujours d'une grande homogénéité. De façon générale les figures de P. DOMBRAY [46] manquent de précision et tous les éléments oléifères se ressemblent, bien qu'ils revêtent, selon le genre d'hépatique, une très grande variété d'aspect.

Ainsi nous pensons qu'il est impossible de représenter de

la même façon les éléments de l'ergastome de *Marchantia polymorpha*, de *Frullania tamarisci* et de *Plagiochila asplenioïdes*.

Les profondes différences que nous avons relevées entre la structure réelle des éléments de l'ergastome différencié et celle qui résulte des interprétations de P. DOMBRAY, (surtout dans les tissus embryonnaires), nous incline à suspecter également ce qui a trait aux descriptions, par le

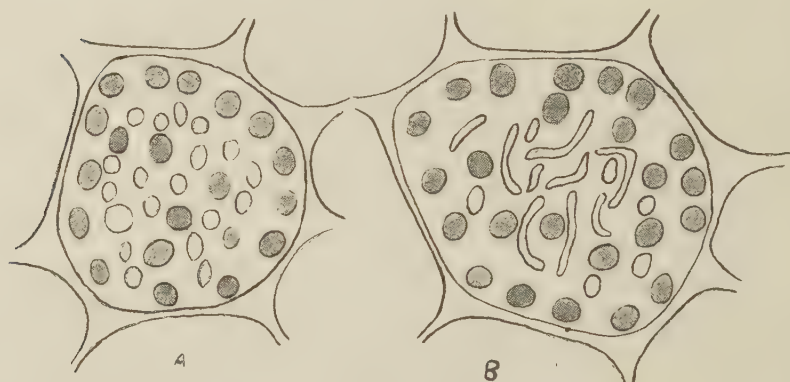


Fig. 1. — *Madotheca platyphylla*.

A, Eléments normaux de l'ergastome adulte ; B, Eléments anormaux de l'ergastome adulte (échantillon parasité par un 'champignon).

même auteur, des autres éléments cellulaires. En effet, le plastidome est toujours dessiné de façon homogène et le vacuome est toujours absent des figures représentant les tissus adultes.

Les éléments de l'ergastome différencié sont au nombre de 15 à 25 dans les cellules de cette hépatique où on les rencontre de façon constante, pourvu qu'on s'adresse à des feuilles suffisamment développées (fig. 1 A).

Ces éléments dans les cellules adultes sont de 1 à 3 microns, de longueur, sur 1 à 2 de large ; ils sont fusiformes, ovulaires, ou parfaitement sphériques en général, parfaitement homogènes, très réfringents, et incolores. L'acide osmique

les fait noircir rapidement; ils sont dissous à peu près entièrement par les solvants organiques.

Nous avons observé dans certains cas un dimorphisme curieux de ces éléments (fig. 1, B) qui acquièrent des dimensions assez grandes et sont plus ou moins filamenteux.

On peut, sur le vivant, remarquer la présence d'un très fin réseau cytoplasmique reliant les plastes et les ergastomes entre eux. Dans ce réseau se retrouvent de très fines granulations que l'on retrouve après la fixation que nous assimilons à des microsomes. Ces microsomes toujours très petits et de taille constante, diffèrent des autres inclusions cytoplasmiques réfringentes dépendant de l'ergastome mobile que l'on rencontre, en petite quantité seulement, dans les cellules adultes. Il n'en est pas de même dans les jeunes tissus où l'ergastome mobile est abondant, et où l'ergastome différencié, manquant totalement dans la cellule apicale et jusqu'à un point avancé du développement des feuilles, n'apparaît que tardivement.

La figure 8 pl. II, par exemple, représente de très jeunes cellules ne renfermant pas d'oléocorps. Le vacuome est représenté soit par de petites vacuoles (V) se colorant faiblement par le rouge neutre et à contour bien défini, soit par des vacuoles plus grandes dont on ne peut percevoir les limites et renfermant de très volumineuses endochromidies (E). On trouve dans le cytoplasme, avec les plastes, de nombreuses inclusions réfringentes qui représentent l'ergastome mobile.

Nous avons pu examiner plusieurs cellules apicales de *Madotheca* soit sur le vivant, soit après fixation et coloration. Il ressort de ces observations qu'on n'y trouve pas d'ergastome différencié mais seulement des inclusions osmiophiles analogues à celles que nous venons de décrire. Le cytoplasme de la cellule apicale est abondant et dense (fig. 11, pl. VI), son noyau est volumineux, les vacuoles sont assez nombreuses et petites vraisemblablement, non disposées en réseau et généralement sphériques. Les plastes sont invisibles sur le

vivant et la méthode de Flemming semble, d'autre part, peu favorable à leur mise en évidence dans ces jeunes tissus. Les inclusions osmiophiles après fixation sont très abondantes. Elles appartiennent à des systèmes différents ; c'est-à-dire à l'ergastome mobile, au vacuome lui-même ou à des composés diffusant à l'extérieur de la vacuole, au moment de la fixation. Certaines inclusions osmiophiles (fig. 11, pl. VI) représentent certainement des chromidies ou des endochromidies, mais la plupart sont des corps gras ou oléagineux déjà visibles sur le vivant, répartis dans le cytoplasme, au hasard, à l'état de gouttes isolées et définies, ou plus ou moins condensés autour des vacuoles dont certaines sont entourées d'un réseau noir plus ou moins complet et défini (fig. 11, pl. VI).

Nous avons souvent retrouvé dans les jeunes tissus cette accumulation de substances osmiophiles autour des vacuoles (fig. 10, pl. VI). Il y a là probablement une zone oléolipoidique. Nous verrons, plus tard, que l'ergastome différencié prend également naissance au voisinage des vacuoles. Dans le premier cas, que nous venons de décrire, il ne s'agit pas d'éléments de forme, de disposition, de nombres constants, mais seulement d'aspects éminemment variables, indiquant uniquement une accumulation de substances osmiophiles. Ces aspects n'ont pas de valeur absolue et nous admettons très bien que dans la cellule apicale ainsi que dans les jeunes cellules filles, les composés réducteurs de l'acide osmique puissent exister à l'état de très fines gouttelettes, ou dans le cytoplasme sous une forme encore non manifestée, rappelant les lipoides diffus « périvacuomaires » sur lesquels PARAT [115] a insisté.

On sait d'ailleurs que PARAT désigne l'appareil de GOLGI sous le nom de « zone », le faisant passer du rang de système permanent et indépendant à celui de complexe mobile et variable. CHALAUD [24] a fait l'étude cytologique des « corps oléiformes de *Fossombromia pusilla*, dans la belle monogra-

phie qu'il a publiée sur cette hépatique ; il aurait retrouvé ces éléments partout dans le thalle, y compris les tissus embryonnaires, soutenant ainsi qu'il l'a écrit lui-même, que « dans ces tissus jeunes, ils sont en très grand nombre, et de très petite taille. Il m'a été impossible de les observer dans l'initiale même, mais il n'est pas douteux qu'ils y existent : ils y ont été signalés par divers auteurs et c'est à eux que doivent être rapportées les fines gouttelettes signalées par RIVETT [129] dans la cellule initiale d'*Alicularia scalaris* Cord. »

Evidemment tout dépend de ce qu'on entend par corps oléiformes. Mais nous avons vu qu'on ne pouvait ranger parmi ceux-ci les inclusions osmiophiles banales de l'ergastome mobile.

D'autre part, nous n'avons jamais observé *Fossombronia* ni *Alicularia*, par conséquent nous ne savons s'il s'y trouve réellement un ergastome différencié au sens que nous avons défini. Existe-t-il chez *Fossombronia*, des éléments constants comparables à ceux de *Madotheca platyphylla*, ou de *Plagiochila asplenioides* par exemple ? Nous ne le savons. L'examen des figures 200 à 207 de CHALAUD semble indiquer qu'il n'y aurait pas de corps oléiformes à proprement parler chez *Fossombronia*. En particulier les figures 204 et 202 montrent tous les termes de passage entre de très fines gouttelettes et des gouttelettes plus volumineuses. Les éléments décrits par CHALAUD ne seraient, dans ce cas, pas autre chose (ses descriptions étant considérées comme exactes), que ceux de l'ergastome mobile.

Cette interprétation que nous donnons des observations de CHALAUD serait conforme avec tout ce que nous avons observé chez plus de trente hépatiques différentes.

CHALAUD, comme nous le verrons plus loin, à propos des spores, n'a pas fait de distinction entre les inclusions oléolipidiques banales ou ergastome mobile et les vrais « corps oléiformes ». L'erreur commise à ce sujet provient sans doute d'un emploi défectueux et malheureusement généralisé du

terme « corps oléiformes », puisque cet auteur retrouve ces éléments jusque dans les mucilages où nagent les spermatozoïdes ainsi que dans la spermatide.

L'étude de *Madotheca* nous a montré qu'il existait, en effet, dans les jeunes tissus de nombreuses gouttelettes réfringentes (fig. 2 b). Elles peuvent parfois augmenter de nombre au cours d'une observation prolongée et se fusionner pour en

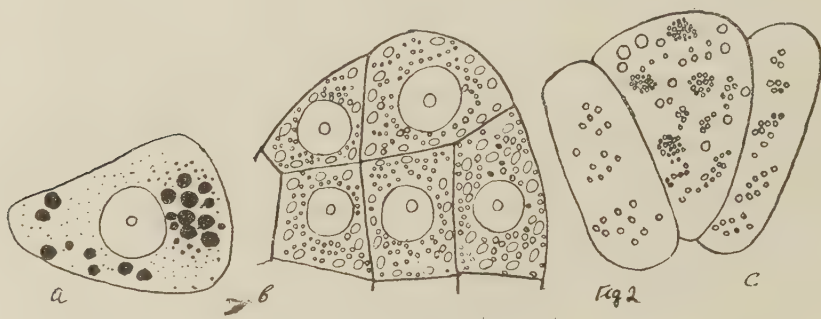


Fig. 2. — *Madotheca platiphylla*.

A, Cellule apicale, fixation osmiée. Ergastome mobile ; B, jeunes cellules, *in vivo* ; Plastès, ergastome mobile seulement ; C, Cellule apicale, *in vivo*. Ergastome mobile très abondant.

donner de plus grandes. Nous sommes là en présence d'un cytoplasme saturé d'oléolipoides, et ces derniers sont susceptibles, sous de faibles influences normales ou des causes naturelles externes traumatisant insensiblement la cellule de passer à un aspect figuré. Dans les cellules apicales (fig. 2 c) qui sont d'une extrême fragilité le phénomène est très net. et la seule pression exercée par l'objectif à immersion, suffit pour faire apparaître des masses considérables d'inclusions réfringentes s'ajoutant à celles qui existaient précédemment. Ces inclusions se retrouvent naturellement à la fixation osmiée (fig. 10 et 11, pl. VI) et fig. 2 a dans le texte qui produit en outre, elle-même et nous en reparlerons plus loin, des déformations considérables.

Quel est l'aspect sous lequel se présente le vacuome au

moment de la formation des éléments de l'ergastome différencié, comment et où apparaissent les globules de l'ergastome mobile, quelles sont les relations réciproques entre ces trois systèmes ? Il nous reste encore à répondre à ces questions. Nous avouons que nous sommes très longtemps demeuré perplexe devant des faits incohérents et des observations décevantes dont les résultats, bien qu'obtenus par des techniques constantes, variaient sans cesse. La plus grande cause d'erreur à éviter réside dans l'observation de matériaux ne se trouvant pas dans le même état végétatif. L'ergastome mobile des tissus jeunes est susceptible de varier d'une façon considérable. Il peut passer inaperçu ou presque, dans un grand nombre de cas, car il n'est pas douteux qu'il apparaît très rapidement avant la formation des éléments de l'ergastome différencié par une sorte de phanérose ou de mobilisation naturelle d'éléments jusqu'alors diffus ou représentés par un petit nombre de constituants solubles se combinant rapidement. La fixation, même par les réactifs osmiés, des cellules extrêmement jeunes ne donne pas de bons résultats pour le vacuome, et les méthodes *post mortem* ne nous ont jamais décelé, en ce qui concerne cet appareil, la présence de vacuoles en réseau, mais seulement la présence d'accumulations osmiophiles de nature lipoïdique ou oléagineuse, disposées en chapelets ou en amas divers.

Sur le vivant, on peut obtenir de meilleurs résultats, mais non sans peine, l'interprétation étant très délicate. Dans les jeunes tissus ne renfermant pas encore d'éléments de l'ergastome différencié on trouve : 1° des vacuoles relativement volumineuses pour de petites cellules et en faible nombre ; 2° un très grand nombre de minuscules vacuoles ; 3° c'est là le point le plus délicat, sur lequel P. DOMBRAY [46] a bâti toute son argumentation, des vacuoles plus ou moins allongées, et des formations réticulées prenant toutes deux le rouge neutre.

Quel est le rapport qui existe entre le vacuome relative-

ment compact et le vacuome dispersé ? Lequel des deux précède l'autre ? Nous avons assisté, tout à fait à la fin de nos recherches, au moment même où nous rédigeons ce mémoire à des phénomènes que nous ne serions pas loin de décrire sous le nom de fragmentation de vacuoles. C'est un fait qu'il faudrait évidemment vérifier, et qui, s'il se produit réellement ne doit se manifester dans ce matériel qu'avec une grande lenteur. La chronologie des phénomènes est là, comme toujours, la pierre d'achoppement dans ce genre de recherches. De façon grossière on peut dire que les cellules les plus vieilles sont évidemment les plus rapprochées de la zone marginale de la feuille ; mais il s'agit très souvent de feuilles embryonnaires très petites où les cellules presque toutes sans ergastome différencié, ont un aspect homogène. Les phénomènes ne se déroulent pas avec une régularité mathématique, c'est-à-dire qu'on ne voit pas une évolution régulière des deux systèmes ergastomiques se poursuivre insensiblement depuis la base de la feuille jusqu'au sommet.

La différenciation des éléments de l'ergastome immobile s'effectue parfois au hasard et par îlots de cellules enclavées parmi d'autres qui ne présentent encore aucun signe de cette activité sécrétrice. (Ceci est surtout vrai pour les très jeunes amphigastres chez *Madotheca*.) (Fig. 3.)

On peut trouver en effet des cellules sans ergastosomes différenciés renfermant un nombre réduit de grandes vacuoles alors qu'au moment de la formation de ces mêmes ergastosomes, la cellule contient un vacuome très dispersé. De tels faits nous ont porté à admettre l'existence d'une fragmentation du vacuome.

P. DOMBRAY a décrit, pour *Radula complanata*, en paraissant très affirmatif, des faits qui se répéteraient pour toutes les hépatiques.

Y a-t-il, comme le pense cet auteur, des réseaux vacuolaires précédant toujours les oléocorps ? Les essences ou autres substances osmiophiles prennent-elles naissance dans

la vacuole ? Dans nos premières observations nous n'avons pas observé de réseaux vacuolaires mais, par la suite, il nous a été donné de trouver des *aspects réticulés colorés par le rouge neutre*, dans des cellules ne renfermant pas encore d'ergastosomes différenciés. C'est tout ce que nous pouvons dire,

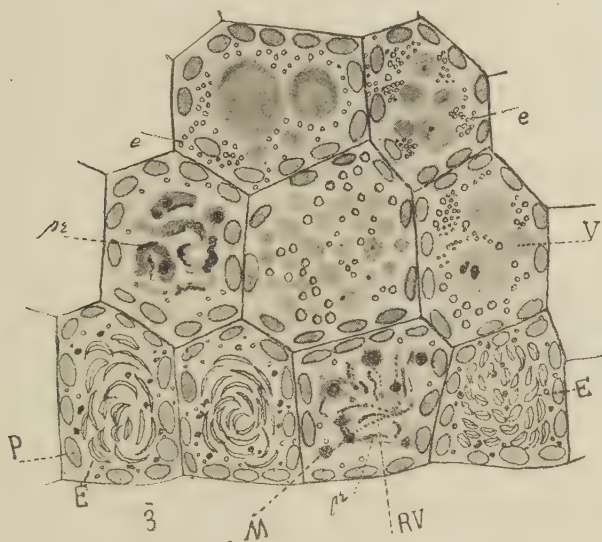


Fig. 3. — *Madotheca platyphylla*. — Coloration vitale par le rouge neutre. Apparition de l'ergastome différencié dans les jeunes tissus. P, plastides ; E, ergastome différencié évoluant vers la forme adulte. V, vacuome constitué par de grosses vacuoles ; RV, Vacuome en réseau ; M, Endochromidies ; pr, primordia des éléments de l'ergastome différencié, naissant aux côtés du réseau vacuolaire ; e, ergastome mobile très abondant dans les cellules avant l'apparition de l'ergastome différencié, et se raréfiant par la suite.

les objets sont très petits, il y a à cet instant des primordia d'ergastosomes différenciés très ténus, et le colorant vital semble apporter des perturbations assez considérables et les altérer assez rapidement. Ainsi, les zoologistes doivent englober souvent sous le terme de vacuome des éléments qui sans doute ne sont pas de vraies vacuoles ; tout ce qui prend le rouge neutre, n'est pas fatalement vacuome mais pour P. DOMBRAY aucun doute n'est possible et selon lui le réseau vacuolaire donne directement naissance aux « oléocorps ».

On sait combien de résistances a rencontré cette conception, car tout ce qu'on sait en Cytologie, à l'heure actuelle, tend à montrer que les substances ergastiques (essences, graisses, etc.), naissent dans le cytoplasme. ARNOLD [4] avait émis des vues analogues en cytologie animale et ses vues ont été discutées et controuvées fréquemment et notamment par PARAT. *Un fait absolument* hors de doute chez *Madotheca*, est la préexistence des composés osmioréducteurs (dans le cytoplasme, où ils prennent naissance) à cette crise de fragmentation que subit le vacuome au moment de l'élaboration de l'ergastome différencié et leur disparition *partielle* et *progressive*, au fur et à mesure, que ce dernier système devient plus visible. Il n'existe, de toute évidence, aucune relation morphogénétique directe entre l'ergastome immobile et l'ergastome mobile, ce dernier servant de réserve et ne jouant qu'un rôle purement trophique en cédant ses matériaux peu à peu au cytoplasme.

Donc en dernier ressort huiles essentielles et autres substances se formeraient toujours dans le cytoplasme selon les théories classiques. Reste le dernier point d'une transformation propre du vacuome, une partie de ce dernier devenant réellement le substratum des éléments ergastosomiques différenciés.

C'est une hypothèse que DOMBRAY a adoptée après GARGEANNE [58,] et c'est un pas que nous ne pouvons franchir, car nous n'avons jamais eu sous les yeux de stades nous montrant, comme cela serait nécessaire, un passage d'essences ou de lipoides, du cytoplasme vers la vacuole.

En un mot, les substances osmiophiles réfringentes observées dans les jeunes tissus de *Madotheca* contribuent à former *indirectement* l'ergastome différencié. L'apparition de ce dernier est en relation avec des modifications du système vacuolaire et en particulier avec des phénomènes de dispersion. Tels sont les faits fondamentaux que nous dégageons de nos observations; il faut nous arrêter là, tout le reste n'est qu'hypothèse.

P. DOMBRAY a vu de très jeunes ergastosomes se colorer par les réactifs vitaux et a conclu à une évidente filiation avec le vacuome sur laquelle nous ne pouvons que demeurer dans une complète réserve, à mi-chemin entre les théories exclusives de P. DOMBRAY-GARGEANNE et celles de POPOVICI-BERGDOLT qui avaient, semble-t-il, confirmé en les systématisant nos premiers travaux.

Le mécanisme de formation que nous assignons à l'ergastome différencié des Hépatiques présente une certaine analogie avec l'hypothèse que M. et M^{me} MOREAU [107] ont formulé pour expliquer la genèse des essences dans les glandes à lupuline du *Houblon* cultivé. D'après ces auteurs, contrairement aux idées de POLITIS, et en accord avec celles de GUILLIERMOND, il n'y a aucun rapport entre les mitochondries et les essences (la membrane cellulaire ne joue également aucun rôle dans l'élaboration de ces substances). Il y aurait une relation entre les lipoïdes et les essences et cette théorie a été critiquée par DOMBRAY.

L'absence de chondriome homogène chez les Hépatiques est pour nous un fait certain, dont on suivra la discussion dans les prochains chapitres et les transformations de plastes en chondriomites vues dans ces cryptogames par différents auteurs, correspondent, d'après nous, à des colorations d'éléments résultant du métabolisme cellulaire général ou de celui des plastes et non pas à des éléments permanents.

Chez le *Houblon* d'après MOREAU : « les mitochondries (dont POLITIS faisait dériver les essences) *constituent un état figuré de substances sans individualité propre, et leur substance peut être engagée dans des réactions se terminant par la production d'essences et de résines* ». C'est de ce pseudo-chondriome extrêmement labile et variable que relèverait l'ergastome actif de nos hépatiques.

MOREAU admet très bien, et nous sommes de cet avis en ce qui concerne notre matériel, que les lipoïdes peuvent quit-

ter l'état figuré et se répandre dans le cytoplasme (*loc. cit.*, p. 200) « les lipoïdes abondants d'abord, disparaissent alors que les essences et résines prennent à leur tour de l'importance et : « si les lipoïdes ne constituent pas des organites durables, leur substance peut être engagée dans des réactions se terminant par la production d'essences et de résines, de sorte que l'enrichissement de la cellule en ces derniers corps entraîne un appauvrissement en composés lipoïdiques ».

N'est-ce point en somme là l'image de ce qui se passe dans les jeunes cellules d'hépatiques ? L'image de la transformation d'une partie de l'ergastome mobile oléo-lipoïdique en ergastome différencié et immobilisé, principalement composé d'huiles essentielles.

Le reste du développement de l'ergastome différencié est, relativement plus facile à suivre quoique présentant encore des obscurités. Les corps « oléiformes » apparaissent *brusquement* (pl. I, fig. 6). Ils ont, à ce stade, un aspect particulier, absolument différent de celui qu'ils auront à l'état adulte. Ce sont des disques très menus, parfois plats et le plus généralement concaves et légèrement gauchis. Ils sont incolores par le Rouge neutre, le Bleu de crésyl, le vert Janus, etc. Ils ont très souvent un aspect filiforme quand ils sont vus par la tranche et apparaissent emboîtés et disposés en files comme les écailles imbriquées d'un oignon. En réalité pour définir leur aspect, d'un seul mot, nous dirons que ce sont des « verres de montre ». Cette forme est vraisemblablement due à ce qu'au début de leur évolution, ils épousent plus ou moins les contours du vacuome.

Dans les cellules embryonnaires les éléments oléifères constituent généralement des couronnes encerclant, plus ou moins, les vacuoles. Par la suite, ces verres de montre hyalins et vésiculeux grossissent et se gonflent en devenant de plus en plus réfringents, mais l'accroissement paraît se faire toujours d'une façon homogène et l'on ne voit jamais

de globules oléagineux libres, à l'intérieur, sur le vivant. Leur forme se modifie jusqu'à l'état adulte où l'on ne trouve généralement plus que des corps sphériques ou fusiformes.

L'examen du matériel fixé donne, pour ces stades, des résultats analogues. Les fixateurs à base d'Osmium sont les seuls qui donnent des résultats. Une forte concentration en acide osmique montre des éléments oléifères absolument noirs, sur lesquels aucune coloration ultérieure ne prend naturellement ; en outre, la régression par l'eau oxygénée est difficile. Une plus faible proportion d'acide osmique dans le liquide fixateur permet la fixation des oléocorps et leur conservation sans noircissement exagéré, ce qui permet une coloration ultérieure. Un excellent mélange que nous avons utilisé (1) et que nous recommandons pour l'étude de l'ergastome de *Madotheca* consiste dans l'association du bichromate de potassium et de l'acide osmique avec peu ou pas d'acide acétique (Voir à la technique pour les proportions que nous avons employées). Après cette fixation, l'hématoxyline charge trop la préparation ; il est préférable d'utiliser la triple coloration de *Flemming*, la triple de *Mallory* ou la simple méthode fuchsine acide, vert lumière.

Cette méthode de fixation bien qu'excellente ne nous a pas permis d'observer la transition directe soutenue par P. DOMBRAY entre les réseaux vacuolaires (très douteux après fixation, ou inexistants dans nos préparations) et les éléments de l'ergastome différencié. Le vacuome, dans les tissus embryonnaires, nous est apparu (pl. II, fig. 5) comme composé de petites vacuoles généralement sphériques, et autour de ces dernières se trouvaient les éléments de l'ergastome immobilisé en forme de calottes (verres de montres). On y distingue également les plastes dans le cytoplasme. On peut remarquer qu'il n'existe dans ces cellules que très peu d'inclusions osmiophiles banales et l'ergastome mobile,

1. CHAMPY sans acide chromique.

qui a partiellement servi à l'élaboration des « oléocorps », est représenté par de petits amas noirs irréguliers. Dans des éléments plus jeunes (fig. 4) il y a, au contraire, un ergastome mobile développé, représenté par de nombreux corps osmio-philés.

Par la suite, les éléments de l'ergastome différencié gros-



Fig. 4. — *Madotheca platyphylla*. — Fixation osmiée. Jeunes cellules avec ergastome mobile très abondant.

sissent et se criblent de gouttelettes noires correspondant à une sécrétion de substances osmioréductrices non perceptibles sur le vivant, comme nous l'avons indiqué. Les ergastosomes, s'il faut tenir pour véridiques les résultats fournis par les méthodes de fixation, n'ont pas une structure homogène et ne sont pas du tout assimilables à une simple goutte d'huile. La constance de leur forme seule plaiderait déjà en faveur de cette interprétation. Il existe une sorte de substratum naissant probablement *de novo* dans le cytoplasme, au contact du vacuome. Ce « stroma » constitue le corps de la plaquette ergastosomique, ou du « verre de montre » (pl. 2, fig. 7). Il est peu osmiophile par lui-même. Sur, ou à l'intérieur de ce stroma, on distingue des sphérules osmiophiles augmentant de nombre jusqu'à former une bande plus ou moins continue et à remplir tout le corps de l'élément.

Les éléments de l'ergastome immobilisé demeurent, par la suite, constamment dans le cytoplasme et leur forme devient peu à peu fusoriale ou sphérique (pl. II, fig. 4 et 7).

Toutes les observations suivantes que nous allons relater au sujet d'autres Jungermanniées ont été faites sur le vivant. Chez ces hépatiques à corps oléiformes composés les phénomènes sont encore plus difficiles à interpréter sur le matériel fixé que dans le cas de *Madotheca platiphylla*, car leur fixation est beaucoup plus délicate.

2° *Radula complanata*.

P. DOMBRAY [46] a étudié à fond cette hépatique et a conclu, semble-t-il, en grande partie surtout sur ces résultats, à la transformation du vacuome en ergastome immobilisé. La façon dont il conçoit cette évolution du vacuome chez *Radula* est assez ambiguë, et laisserait presque supposer que l'auteur admet une transmutation complète du vacuome en corps oléiforme. Les figures de ses planches (VI et VII) permettent d'interpréter ainsi sa façon de penser. En effet P. DOMBRAY (p. 117) s'exprime ainsi : « Nous voyons alors les réseaux du système vacuolaire augmenter d'épaisseur (fig. 14, 15, pl. VI)... Ils se fusionnent en une masse globulaire (fig. 10, pl. VI) ridée qui donnera le corps oléiforme unique dans les cellules des feuilles. »

Ainsi, dans les cellules adultes de *Radula* P. DOMBRAY ne représente pas de vacuome (fig. 1, 2, 3, 4, pl. I) et semble assimiler à ce dernier le ou les corps oléiformes. Nos observations nous ont montré que le vacuome existe indépendamment de toute question d'ergastome différencié dans les cellules, parvenues à l'état adulte, des feuilles aussi bien que dans celles de la tige. Notre fig. 1 montre en E, pl. 1 un ergastosome adulte de *Radula complanata* appliqué à la périphérie du vacuome avec lequel il n'a absolument aucun rapport.

P. DOMBRAY a rapproché l'ergastome différencié de *Mar-*

chantia polymorpha de celui de *Radula complanata*. L'assimilation est difficile certes dans l'un et l'autre cas, il n'y a normalement qu'un seul oléocorps par cellule, mais les conditions d'existence des cellules spécialisées de *Marchantia* sont très différentes de celles de *Radula*. Chez *Marchantia*, la cytologie de la cellule adulte est modifiée assez fortement par la présence de l'ergastome unique ; les chloroplastes dégénèrent plus ou moins ainsi que le noyau et sont accolés contre la membrane dans une étroite bande de cytoplasme. Il n'y a rien de comparable dans les cellules de *Radula* où les chloroplastes ainsi que les autres éléments cellulaires demeurent normaux, l'ergastome n'étant qu'une enclave plus volumineuse que les autres.

Les cellules adultes de *Radula* ont généralement un seul oléocorps d'environ 20 à 30 μ , de coloration marron plus ou moins foncée ; son aspect est solide et plus ou moins granuleux. Si l'on examine des éléments un peu moins âgés l'aspect diffère sensiblement. Ce sont des sortes de lacunes pleines d'un liquide bistre clair où fourmillent de très fins granules agités d'un mouvement brownien, en compagnie de 1 à 3 globules très réfringents qui persistent vraisemblablement dans les stades plus âgés, mais deviennent invisibles par la présence d'une coque épaisse. L'acide osmique colore d'ailleurs ces globules en noir, les sels de fer indiquent, ainsi que le bichromate, la présence de tanins, dans la cellule, mais leur localisation est tout à fait incertaine. C'est ce que Popovici [122] avait d'ailleurs indiqué à propos des éléments oléifères de *Lunularia* et de *Pellia*. Les plus jeunes cellules de *Radula* ne renferment pas d'ergastome différencié. (Pl. 1 fig. 1.) Dans une préparation colorée au Rouge neutre on trouvera de nombreuses petites vacuoles sphériques à endochromidies à côté des plastes et des éléments de l'ergastome mobile. C'est là, croyons-nous, l'état le plus courant du vacuome, n'ayant personnellement pas observé, jusqu'à présent, de réseaux vacuolaires chez cette hépatique. (Fig. 8 pl. 1).

Chez *Radula complanata* comme chez *Madotheca platyphylla* les sphérules réfringentes de l'ergastome mobile paraissent diminuer de nombre, au fur et à mesure que la cellule vieillit et il se peut que là également, dans les jeunes tissus, elles jouent ce rôle trophique que nous avons suggéré plus haut. Si ce processus a lieu, il est également indirect, car on ne voit pas de formation brutale d'« oléocorps » par accumulation directe de globules cytoplasmiques ; les essences, les huiles, les lipoïdes, à l'état d'enclaves, dans le cytoplasme, peuvent fort bien émigrer à travers ce dernier sous une forme soluble. On constate dans des cellules plus âgées un phénomène remarquable dont on ne peut saisir l'origine exacte : c'est l'apparition (Fig. 1, *a*, *b*, *c*, Pl. 1) d'espèces de sacs plissés d'une réfringence d'abord peu différente de celle du cytoplasme et s'accroissant par la suite. Cette formation prend évidemment naissance aux côtés du vacuome dont elle paraît épouser les contours. On comprend, en examinant avec attention sur le frais, la façon particulière dont ce sac plissé se « détache » de la paroi de la vacuole, que GARGEANNE ait été tenté d'y voir une sorte de « tonoplaste ».

Le sac plissé est parfaitement incolore par le rouge neutre ; il est transparent et homogène. Peu à peu, ce sac se « gonfle », se déplisse et on assiste à sa transformation en oléocorps, il prend une coloration plus foncée tandis qu'apparaissent, à l'intérieur, des globules réfringents.

Il y a là, chez *Radula complanata*, des phénomènes assez équivoques sur lesquels il est difficile de se prononcer. Quels sont les rapports exacts de cette sorte de « tonoplaste » (1) réfringent du début avec la vacuole ? Y a-t-il, dans ce cas, une véritable membrane oléolipoidique entourant la vacuole ou bien le jeune élément de l'ergastome différencié coiffe-t-il seulement le vacuome ? Chez *Madotheca platyphylla* ainsi, que chez les autres hépatiques que nous avons étudiées,

1. Ce terme n'a qu'une valeur métaphorique.

nous avons pu constater qu'il y avait, sinon un rapport de filiation, du moins un rapport de position entre les deux éléments, mais c'est chez *Radula complanata* que cette relation nous a paru être la plus étroite. En dehors de l'oléocorps adulte il existe un appareil vacuolaire. Quand on fait agir les colorants vitaux avec précaution, on voit avant que l'oléocorps lui-même se colore, nager autour de lui, dans la vacuole qui est toute voisine, de nombreuses endochromidies. Si l'oléocorps se colore, ce n'est jamais que secondairement et accidentellement, tout compte fait (fig. 1, e, f, pl. I). Cette coloration apparaît d'une façon particulière : (fig. 11 de a à f, Pl. 1) elle se produit avec intensité en un point de l'oléocorps, puis progresse de proche en proche, jusqu'à ce que la coloration soit totale. La coloration par les colorants vitaux modifie d'ailleurs considérablement l'état physique de l'oléocorps dont la substance paraît se coaguler. Les globules oléagineux eux-mêmes, notons-le en passant, qui sont contenus dans l'oléocorps sont susceptibles d'adsorber les colorants vitaux.

Quelle est la constitution physique exacte des éléments oléifères et en particulier de ceux qui, à l'inverse du cas de *Madotheca platyphylla*, sont de composition hétérogène ? Nous avons plus d'une fois remarqué soit fortuitement, soit au cours d'expériences, combien une pression même faible exercée sur les cellules était capable d'apporter d'importantes modifications ; nous avons surtout noté cela chez *Radula complanata* et *Diplophyllum albicans*. Les oléocorps de ces hépatiques ne sont pas, à l'état liquide, lorsqu'ils sont adultes. Certes, on voit très souvent s'agiter les sphères oléagineuses, et les fines granulations, mais nous estimons que ces mouvements relèvent toujours d'une lésion plus ou moins prononcée du cytoplasme. En effet, on rencontre aussi des oléocorps qui ne sont le siège d'aucun mouvement brownien ; mais que l'on vienne à produire, en abaissant légèrement l'objectif à immersion, un minime écrasement de la préparation, on voit

aussitôt, ou peu à peu, les granules se mettent en mouvement tandis que le corps oléiforme se gonfle légèrement.

Ces phénomènes se produisent d'ailleurs également à l'arrivée des colorants vitaux. On peut interpréter ces faits de la façon suivante : l'oléocorps adulte constitue un milieu plus ou moins solidifié, l'écrasement produit un déséquilibre entre les hydratations des colloïdes protoplasmiques avoisinants et de l'oléocorps qui s'imbibe davantage, ce qui diminue la viscosité et permet les mouvements browniens.

3° *Plagiochila asplenioides*.

L'ergastome différencié de *Plagiochila asplenioides* est représenté par 6 à 10 corps incolores, réfringents, et irrégulièrement mûriformes, c'est-à-dire composés de sphérules élémentaires de nombre et de dimension variables ; ces deux caractères sont d'ailleurs en raison inverse l'un de l'autre, car plus les éléments constitutifs de chaque « oléocorps » sont nombreux, plus ils sont petits et inversement (il en est d'ailleurs ainsi pour tous les oléocorps mûriformes : *Calypogeia* par exemple, etc.).

Selon leur âge, les éléments de l'ergastome différencié sont constitués par des globules plus ou moins libres ou soudés, ce dernier cas étant celui que l'on rencontre dans les plus vieilles-cellules. Les colorants vitaux ne manifestent jamais aucune action sur l'ergastome différencié de *Plagiochila* et seul le Bleu d'indophénol le colore normalement. De façon générale, les colorants vitaux délimitent assez mal les vacuoles chez *Plagiochila*, précipitant seulement des endochromidies très volumineuses et nombreuses, parfois simples, mais le plus souvent arborescentes. D'après DOMBRAY l'évolution de l'ergastome se ferait naturellement comme pour *Madotheca* ou *Radula*, le réseau vacuolaire engendrant directement cet appareil. Le vacuome, là encore, nous a paru être

constitué de vacuoles sphériques et colorables par le rouge neutre qui provoque l'apparition d'endochromidies. Dans ces cellules encore sans ergastome, contrairement à ce qui se passe dans les cellules adultes, le vacuome est toujours assez

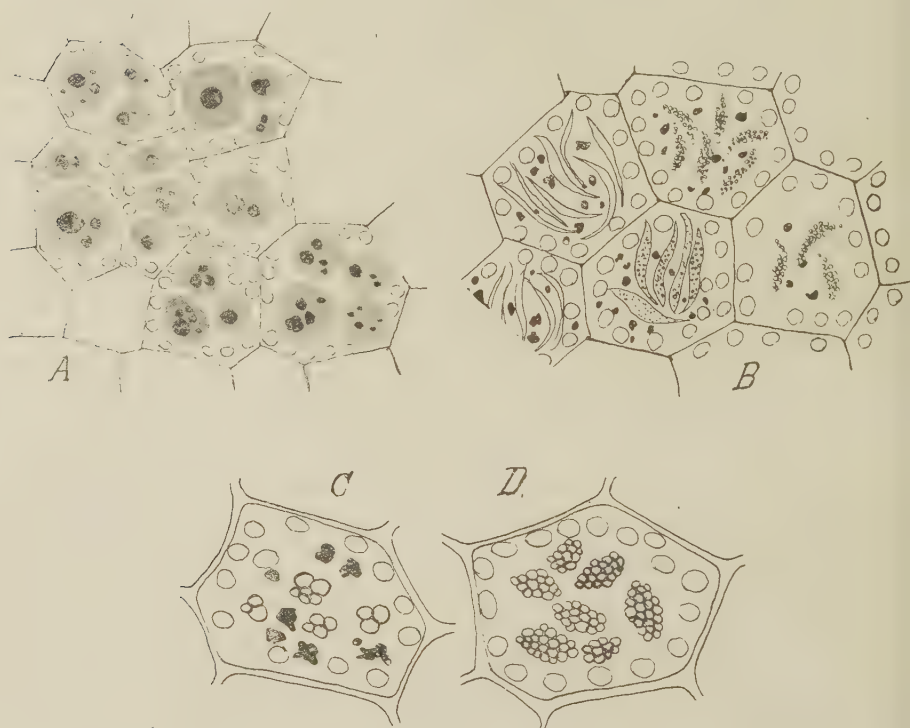


Fig. 5. — *Plagioclila asplenioides*.

Colorations vitales par le Rouge neutre.

A, Vacuome de cellules jeunes sans ergastome différencié ; B, apparition de l'ergastome différencié ; C, et D, Ergastome, différencié adulte.

bien délimité par les colorants vitaux ; ces cellules renferment, par ailleurs, tous les autres éléments cellulaires normaux (fig. 5). Dans des cellules un peu plus âgées apparaissent les premiers éléments de l'ergastome. Ce sont des filaments en nombre variable, à forme sinueuse, parfois incur-

vée. Ils s'insinuent entre les chloroplastes et les vacuoles⁷ qui, dès cet instant, perdent la faculté de se colorer en masse par les colorants vitaux, ce qui ne permet plus d'en observer exactement les contours. Le liquide vacuolaire contient⁷ des endochromidies en général plus nombreuses qui retiennent pour elles les colorants. Cependant on peut se rendre compte (fig. 5, B) que ces vacuoles sont petites, en examinant l'agitation des plus petites endochromidies qui viennent frapper la paroi cytoplasmique, après un court trajet. Les éléments filamenteux ne se colorent jamais par les colorants vitaux. On les voit par la suite s'épaissir, se redresser (fig. 5, B), puis devenir hétérogènes et se cribler d'une quantité de minuscules sphères réfringentes dont le nombre diminue graduellement par fusion. A ce moment l'ergastome différencié est constitué et évolue vers sa forme adulte mûriforme (fig. 5 C et D) perdant peu à peu, en vieillissant, son irrégularité pour devenir ovoïde ou ellipsoïdal.

4° *Lophocolea minor*.

Cette petite hépatique très commune est intéressante car elle renferme des éléments oléifères dont on peut aisément suivre l'évolution. Le sommet de la tige feuillée est généralement bien dégagé et facilement dissociable, les oléosomes sont assez volumineux et les membranes assez perméables. Les oléosomes des cellules adultes sont au nombre de 5 à 8 ; ce sont des corps réfringents et hétérogènes. On retrouve d'ailleurs ces corps dans les propagules dont cette hépatique est presque toujours couverte. On sait qu'ils prennent naissance, dans ce cas, sur le bord des feuilles, par libération de certaines cellules dont les parois s'épaississent simplement. Notons, en passant, la présence d'amidon dans les plastes des feuilles et des propagules, où il se trouve dans 2 ou 3 petites vacuoles amylicées, alors qu'il est à l'état de nombreux et fins gra-

nules dans les plastes des jeunes cellules. On peut, sur une jeune feuille, suivre aisément l'évolution des oléosomes et au bout d'une heure de coloration au rouge neutre, observer les faits suivants: (fig. 22, pl. III); les cellules les plus jeunes ne renferment pas, selon la règle, d'éléments de l'ergastome différencié, mais des sphères très régulières, de dimensions différentes, hyalines, d'une réfringence à peine différente de celle du cytoplasme, ce qui ne permet pas, dans les premiers instants de l'observation, de les bien distinguer. Lorsque l'observation est réalisée directement, sans l'aide d'un colorant, on est en effet tenté d'assimiler, à première vue, ces sphères à des vacuoles, mais l'arrivée du rouge neutre, montre l'existence d'un vacuome indépendant, par la présence d'endochromidies. Celles-ci sont (c'est leur agitation qui le montre, quand elles viennent buter contre les parois vacuolaires), à l'extérieur de ces sphères hyalines. Les vraies vacuoles sont donc dispersées entre ces sphères et les plastes. Les éléments de l'ergastome différencié apparaissent, pour la première fois, sous l'aspect de sacs plissés, un peu analogues à ceux de *Radula*. Ces sacs dérivent, d'ailleurs, par un mécanisme dont nous ignorons tout, des vésicules hyalines qui sont les vrais primordia et n'ont rien de commun vraisemblablement avec le vacuome, ce dernier se manifestant dans les cellules à sacs sous la forme d'endochromidies plus abondantes que dans les cellules plus jeunes. Il est inutile de décrire la suite; on a la nette impression que les sacs « se sont regonflés » peu à peu, pour donner les éléments de l'ergastome différencié adulte.

Dans les cellules adultes la vacuolymph est absolument incolore et le vacuome bourré d'endochromidies de taille géante. Notons, en passant, cet accroissement de la quantité de métachromatine avec l'âge.

5° *Pellia epiphylla*.

Chez *Pellia epiphylla* nous avons rencontré des vésicules hyalines primordiales analogues, quoiqu'ayant une évolution ultérieure un peu différente. Dans cette hépatique les éléments de l'ergastome sont parfois très nombreux (une trentaine), ils sont subovoïdes, et plus ou moins aplatis, selon les cas, réfringents, presque incolores ; les différents réactifs montrent enfin qu'ils n'ont qu'une homogénéité apparente et renferment une ou plusieurs sphérules. Enfin, chaque élément possède une sorte de hile dont nous reparlerons bientôt. Dans les cellules de l'échancrure d'un jeune thalle avoi-



Fig. 6. — *Pellia epiphylla*. — Evolution des éléments de l'ergastome différencié (Sur le matériel vivant).

sinant la cellule initiale, on trouve seulement des sphères hyalines ; il est difficile de dire quels sont leurs rapports avec le vacuome. Mais quoi qu'il en soit, on voit apparaître peu à peu des sphérules réfringentes autour de ces vésicules, à la paroi desquelles elles paraissent étroitement accolées. Ces sphérules (fig. 6), se fusionnent et donnent des bandelettes qui s'anastomosent plus ou moins et constituent une sorte de réseau réfringent et incolore. A partir de ce moment, il est impossible de suivre le sort de la sphère hyaline. Le réseau grossit, s'épaissit progressivement par coalescence de ses éléments et se régularise en prenant la forme d'une couronne qui s'accroît de façon centripète jusqu'à donner un disque qui se déforme et s'épaissit en se transformant en oléocorps adulte plus ou moins ovoïde dont le hile constitue la ligne de suture des éléments constitutifs.

60 *Lejeunea serpyllifolia*.— Quelques mots seulement sur cette très intéressante hépatique dont nous avons pu seulement amorcer l'étude à la fin de notre travail. La genèse de l'ergastome différencié paraît se faire d'une façon analogue à ce qui

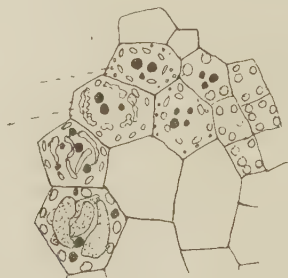


Fig. 7. — *Frullania tamarisci*.
Apparition de l'ergastome différencié.

se passe chez *Madotheca platyphylla*, et d'ailleurs les ergastosomes sont identiques dans les deux cas.

Les phénomènes sont peut être encore plus nets que chez *Madotheca*, l'ergastome différencié étant plus gros et plus abondant. C'est là un matériel de choix.

Frullania tamarisci : fig. 7.

DEUXIÈME PARTIE

L'ergastome différencié dans les organes de multiplication :

SPORES ET PROPAGULES.

L'ergastome différencié a été maintes fois observé dans les propagules de *Marchantia polymorpha* et de *Lunularia cru-*

ciata. Mais il s'agit là de cas spéciaux, et nous ne nous attarderons pas sur ces deux exemples, car ces propagules, souvent étudiées par les auteurs, sont composées d'un grand nombre de cellules et sont assimilables à de véritables thalles.

La cytologie des propagules des Jungermanniées semble au contraire avoir été plus négligée. Les Jungermanniées produisent des propagules nombreuses détachées de diverses parties du végétal, s'accroissant individuellement, souvent groupées en files, et se libérant, par la suite, pour donner naissance à un autre individu, par des divisions répétées. Ce mode de multiplication est extrêmement courant. P. DOMBRAY a observé les propagules de *Radula complanata* et noté la présence d'éléments de l'ergastome différencié dans ces cellules, ce qui prouve évidemment que ces éléments ne nuisent pas à la division cellulaire. Nous avons observé les propagules de *Diplophyllum albicans*, *Lophocolea minor*, *Calyptogeia trichomanis*, *Scapania nemorosa*. Il n'y a d'ailleurs que peu de choses à en dire ; leur structure est identique à celle des cellules de la tige feuillée. Toutes les observations précitées ont été faites sur le vivant.

Les propagules unicellulaires prélevées à l'extrémité d'une tige feuillée de *Scapania nemorosa*, renferment une quinzaine de chloroplastes verts, un vacuome mal délimitable, des gouttelettes réfringentes banales, et un ergastome différencié représenté d'abord par 4 à 5 éléments en verre de montre qui peu à peu, se criblent de gouttelettes réfringentes et prennent la forme adulte (fig. 3, 4, 5, pl. I).

Les propagules de *Diplophyllum albicans* (fig. 8) ont une taille variant entre 8 et 15 μ . Elles sont pourvues d'une membrane très forte portant de 5 à 7 épaississements très importants en forme de bosses, à l'intérieur de cette coque la cellule de l'hépatique a la forme sphérique ou ovale. Les propagules de *Calyptogeia* sont, soit unies, soit bicellulaires, ils ont de 20 à 30 μ (fig. 8).

Tous les propagules renferment donc un ergastome identique à celui des cellules de la tige feuillée qui leur a donné naissance.

L'étude de l'ergastome des spores présente plus d'intérêt. CHALAUD et MOTTE ont abordé la question : Le premier sur des matériaux divers, le second sur le cas particulier de *Fossombronina pusilla*.

On ne peut absolument séparer, bien entendu, l'étude de

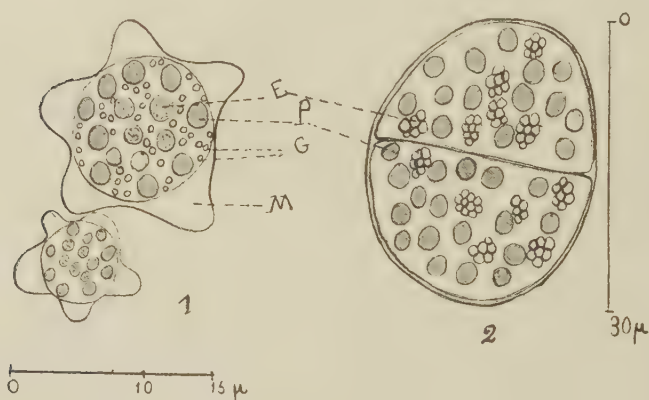


Fig. 8. — 1° Propagules de *Diplophyllum albicans*.

2° Propagules de *Calypogéia trichomanis*.

M, Membrane ; G, Ergastome mobile ; E, Ergastome différencié ; P, Plastes.

l'ergastome de cellule de l'évolution des autres systèmes, vacuome et plastidome, il est même nécessaire de préciser exactement chemin faisant l'état de nos connaissances sur ces derniers. Nous avons pu étudier les spores des espèces suivantes : *Marchantia polymorpha*, *Fegatella conica*, *Anthoceros Levis* (1), *Lophocolea bidentata*, *Chyloscyphus Polyanthus*, *Radula complanata*, *Scapania nemorosa*, *Madotheca platyphylla*, *Pellia epiphylla* et *Metzgeria furcata* (2). Mal-

1 et 2. Ces deux dernières hépatiques n'ont pas d'Ergastome différencié.

heureusement les observations que nous avons pu faire, ne portent pas sur tous les stades. Nous examinâmes le matériel aussitôt qu'il était en notre possession, en fixant une partie, et gardant le reste pour l'observation vitale. Il ne nous a jamais été donné d'observer l'évolution complète de toute la sporogénèse. Nos observations ont toutes porté sur des spores groupées en tétrades ou sur des spores mûres.

FARMER et MOTTE ont noté les difficultés techniques considérables devant lesquelles on se heurte dans l'étude des spores. La fixation des sporogones est une opération très délicate. La fixation dans le vide est indispensable et encore est-il nécessaire de percer ou d'écraser légèrement le sporogone pour faciliter la pénétration. Les difficultés sont surtout grandes avec les sporogones mûrs qu'on a le plus grand mal à déshydrater, inclure et couper correctement. Dans les préparations réussies, le cytoplasme est bien conservé ainsi que ses éléments. Les hépatiques qui nous ont fourni les meilleurs résultats dans ce cas sont *Marchantia*, *Pellia*, *Madotheca* ; les fixateurs utilisés sont le Bouin, le Regaud, le Flemming ou le mélange : Acide osmique, bichromate de potassium 3 p. 100 acide acétique.

Les jeunes stades de la sporogénèse, se laissent facilement fixer et inclure, mais les résultats sont négatifs. La contraction est trop grande et provoque de trop grands ravages pour fournir des préparations acceptables.

Chez *Marchantia polymorpha*, nous avons observé, sur le vivant, des cellules mères de spores (fig. 23, pl. III), encore groupées en chaînettes rayonnant vers l'extérieur du jeune sporogone. Il existe d'énormes masses réfringentes, que nous avons pu colorer par le bleu d'indophénol, ce qui indique leur nature oléo-lipoidique. Le vacuome ne paraît pas être très abondant. Nous ne pouvons fournir aucun renseignement en ce qui concerne le plastidome à ce stade ; mais d'après ce que nous verrons plus loin, à propos des autres hépatiques, il est permis de dire qu'il existe très certainement à l'état

incolore. Les jeunes élatères du même âge que les cellules mères renferment des plastes verts en abondance et le bleu d'indophénol colore de petites inclusions réfringentes (fig. 24, pl. III). Les élatères de *Chiloscyphus polyanthus* (fig. 2, pl. 1) ont la même structure.

Sur des préparations au Regaud-Hématoxyline (fig. 8, pl. VI), nous avons observé des spores individualisées mais encore groupées en tétrades. On distingue un réseau cytoplasmique très lâche, un système lacunaire abondant.

Dans les trabécules cytoplasmiques le cytome est représenté par d'assez nombreux sphérosomes colorés en noir. Au voisinage du noyau, on trouve de 3 à 6 plastes qui ont la structure composée caractéristique qu'on trouve chez *Marchantia*. Leur présence à ce stade est un fait absolument constant qui ne saurait être mis en doute. L'iode les colore en rouge brun et indique la présence de composés amyloïdes.

La fixation au Flemming montre, au même stade, (fig. 20 pl. III), la présence d'inclusions osmio réductrices très abondantes. On peut donc conclure que le système lacunaire observé, après fixation au Regaud, n'appartient au vacuome que pour une faible partie. Ce dernier ne nous semble pas très développé dans la spore mûre de *Marchantia polymorpha*.

Nous avons mis également en évidence les plastes chez *Fegatella conica*, après fixation au Regaud et colorations à l'hématoxyline ou à la fuchsine acide et au vert lumière. Dans les spores mûres les plastes sont au nombre d'une vingtaine.

On a vu que nous n'avons pas parlé d'ergastome différencié. Il n'en existe pas dans ces deux espèces. On ne peut assimiler, en effet, les inclusions réfringentes extrêmement variables en nombre et en forme avec les éléments parfaitement définis que l'on rencontre dans les cellules du thalle

de *Marchantia*, *Fegatella*, *Lunularia*. Les huiles ou les graisses contenues dans les spores sont de même nature que celles que l'on trouve dans les méristèmes chez *Marchantia* ou chez les *Jungermanniées*, c'est-à-dire, comme nous l'avons indiqué, des réserves indépendantes de l'ergastome mobile proprement dit, ne lui donnant jamais naissance par fusion et condensation directe.

CHALAUD a décrit, de même, dans les élatères de *Fossom-*

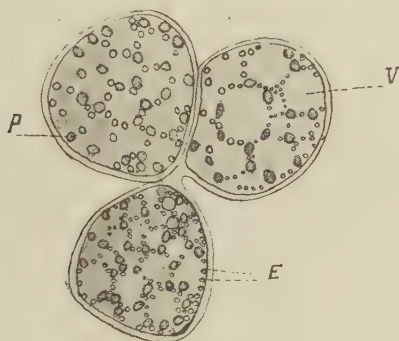


Fig. 9. — *Madotheca platyphylla* — Spores encore réunies en tétrades.
In vivo.

E, Ergastome mobile ; V, Vacuome ; P, Plastès.

bronia pusilla des « gouttelettes oléiformes ». L'examen d'élatères de très nombreuses espèces d'hépatiques, nous a montré qu'il n'existait dans les élatères, pas plus que dans les spores et leurs cellules mères, un ergastome différencié. Les inclusions réfringentes osmiophiles sont très abondantes mais sans aucune constance de forme ni de taille. Les spores de toutes les *Jungermanniées* étudiées, à part deux exceptions dont nous réservons l'étude pour la fin de ce chapitre, ont une structure et une évolution comparables à celles de *Marchantia polymorpha*. Les phénomènes sont encore plus nets.

Nous avons observé des spores de *Madotheca platyphylla* encore réunies en tétrades (fig. 9). La membrane encore non

épaissie et translucide permet de bien voir les éléments. Les vacuoles sont assez grandes et nombreuses ; on voit nettement des plastes verts dans le cytoplasme et une grande abondance de gouttelettes réfringentes, de tailles diverses. Aucun élément figuré de forme constante, représentant l'ergastome, n'est visible. Il en est de même des jeunes tétraspores de *Chiloscyphus polyanthus*.

Les spores mûres de *Radula complanata* montrent une structure identique, avec inclusions réfringentes inconstantes, plastes, petites vacuoles à endochromidies, sous l'action du rouge neutre. La fixation au Bouin avec coloration fuchsine acide vert lumière met particulièrement bien en évidence l'abondance des plastes dans la spore mûre. La méthode Regaud Hématoxyline, d'autre part, nous a permis de constater l'existence, à côté des plastes, d'un cytome représenté par des éléments très nombreux et petits : mitosomes et sphérosomes.

L'examen vital des spores mûres de *Madotheca* et de *Pellia* montre, au contraire, l'existence d'un ergastome différencié typique représenté par des éléments de forme et de dimensions constantes, analogues à ceux du thalle.

Les mêmes résultats sont fournis par l'examen des coupes obtenues après fixation osmiée et triple coloration de Flemming. Les spores adultes de *Madotheca* sont pluricellulaires comme celles de *Pellia*. On y rencontre de petits éléments plus ou moins arqués, fortement noircis par l'osmium et très différents des nombreuses gouttelettes sphériques de toutes tailles également colorées par l'osmium, que l'on peut trouver dans la cellule. Il est d'ailleurs pénible, dans ces coupes au Flemming qui conservent la totalité des éléments cellulaires, de différencier, microsomes, gouttelettes grasses, corpuscules métachromatiques.

La fixation au Bouin ne conserve que le noyau et les plastes (fig. 10). Dans ces derniers, chez *Madotheca platiphylla*, l'hématoxyline colore un réseau et des granules, que

CHALAUD a également remarqués dans les plastes de *Fossombronia*. Lorsqu'on regarde de semblables aspects on n'est pas sûr que l'opinion « dite prévalente », aujourd'hui en cytologie végétale de l'absence de structure chez les plastes, soit un fait définitivement acquis.

J. BEAUVERIE, etc., a nié l'existence d'une structure (1). L'examen de très nombreux plastes d'hépatiques diffè-

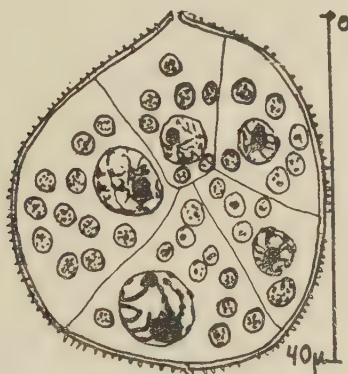


Fig. 10. — *Madotheca platyphylla*.

Picro-Formol pur, Hématoxyline.

Spore pluricellulaire. Remarquer la structure des plastes.

Les noyaux sont en prophase.

rentes, dans les circonstances et par les méthodes les plus diverses, nous invite à demeurer très réservé à ce sujet. Il n'est pas possible que toutes les images concernant les plastes, ne soient que des artefacts. L'existence d'une vacuole centrale préexistant à l'apparition de l'amidon chez *Pellia*, semble notamment n'être pas douteuse. ZIRKLE (2) aurait, d'ailleurs, chez diverses Marchantiacées observé des

1. Le plaste ne serait qu'une émulsion colloïdale de chlorophylle.

2. ZIRKLE cité d'après J. BEAUVERIE (7). †

structures analogues à celles qu'il a vues chez les Sélaginelles. Nous avons étudié les plastes d'*Anthoceros* (fig. 9, pl. II), ces derniers ont indéniablement une structure. On peut certes objecter que l'*Anthoceros* a un plaste composé, mais ce n'est là qu'une hypothèse sans fondements objectifs, et l'idée d'un chromatophore unique hautement différencié, est au moins aussi soutenable. Le reticulum fibreux visible chez l'*Anthoceros* a une existence réelle, perceptible sur le vivant et encore mieux, après l'action des réactifs.

La spore de *Pellia epiphylla* ovulaire et pluricellulaire, possède à un de ses pôles une cellule plus pâle (fig. 9, pl. I). Cette cellule donne naissance au premier rhizoïde lors de la germination de la spore. En réalité, ces spores ne sont pas de vraies spores, mais déjà des thalles pourvus d'une véritable polarité se révélant par des différences de structure cytologique entre les cellules. Les auteurs ont noté parfois que dans une des cellules, les plastes étaient plus nombreux. En effet, ces plastes sont parfois plus nombreux que dans les autres cellules, mais d'une taille plus faible, ils sont en outre moins chlorophylliens. Ces chloroplastes appartenant à une cellule déjà spécialisée et destinée à donner un rhizoïde sont en voie de dégénérescence (fig. 10, pl. I). En outre, dans cette cellule, le vacuome au lieu d'être dispersé au hasard est condensé en une seule vacuole, en forme de calotte coiffant le noyau et dont la convexité est dirigée vers l'extérieur. Enfin on ne constate jamais dans cette cellule la présence d'un ergastome différencié. Ainsi donc, les spores à germination normale, comme celles de *Radula*, *Chiloscyphus*, *Marchantia*, etc., ne renfermeraient pas d'ergastome différencié et les spores à prégermination, comme celles de *Pellia* et de *Madotheca*, en posséderaient un, au contraire. Morre a nié la présence d'éléments oléifères dans les spores des hépatiques, admettant seulement l'existence d'inclusions osmioréductrices banales, qu'il homologue à celles qu'on trouve dans les spores des muscinées.

Bien qu'ayant distingué, en accord avec l'opinion de MOTTE (p. 193) au paragraphe III de son chapitre sur la cytologie de *Fossombronia*, les corps oléiformes proprement dits des corps gras, CHALAUD écrit dans ses conclusions : « Il n'y a aucune difficulté à montrer qu'on trouve des corps oléiformes, un plastome, un chondriome et un vacuome dans les phases essentielles de la vie du végétal. »

TABLEAU I

	GAMETOPHYTE				SPOROPHYTE		
	Protonema	Jeunes segments	Segments adultes	Cellule œuf	Embryon	Cellules mères des spores	Spores mures
G. CHALAUD	+	+	+	+	+	+	+
P. GAVAUDAN :							
ergast-mobile	+	++	+	+	+	++	+
ergast-differ.....	+	0	+	0	?	0	0*

Tableau récapitulatif de l'Evolution des corps oléiformes
d'après G. Chalaud et P. Gavaudan.

La première partie de ce tableau est extraite d'un tableau (p. 205), de G. CHALAUD résumant les conclusions cytologiques de cet auteur sur *Fossombronia pusilla*.

La seconde partie résume l'évolution des deux parties de l'ergastome, d'après nos recherches.

Le signe + indique la présence. Le signe ++ une présence particulièrement abondante. Le signe 0* une absence, avec réserves, pour certains cas particuliers.

L'emploi, à cet endroit, du terme « corps oléiforme, sans définir exactement ce qu'on entend dire par là, est dange-

reux. Corps oléiforme, signifie seulement, au sens où l'ont toujours employé les auteurs et récemment P. DOMBRAY, J. MOTTE et GAVAUDAN : éléments figurés réfringents, osmio-
philes, de forme, de nombre, et de dimensions constantes, selon le type d'hépatique envisagé. CHALAUD n'a pas bien distingué, dans son étude du système oléifère de *Fossombronia*, l'ergastome différencié de l'ergastome mobile.

« Il semble, dit-il (thèse, p. 193), qu'il y ait ensuite, une agglomération des petites gouttelettes du point végétatif (gamétophyte) ou des cellules de l'embryon (sporophyte) aboutissant aux gouttes plus volumineuses, rencontrées dans les cellules adultes de la tige ou du sporogone. »

C'est une erreur, à notre avis, que semblait commettre également GUILLIERMOND en faisant naître les oléoplastes par simple fusion de gouttelettes cytoplasmiques.

A propos de la germination des spores pluricellulaires, comme celles de *Pellia epiphylla* ou de *Madotheca platyphylla*, nous faisons remarquer les faits suivants.

Ces spores primitivement unicellulaires se cloisonnent très tôt à l'intérieur du sporogone. La spore unicellulaire ne renferme pas d'oléosomes, ni primitivement le massif de 5 à 7 cellules qui constitue la spore seconde multicellulaire. L'ergastome différencié n'apparaît qu'assez tard dans cette dernière, vraisemblablement au moment de la germination et comme nous l'avons dit, la cellule en calotte génératrice d'un rhizoïde n'en contient pas. Il se forme ensuite un protonéma où toutes les cellules renferment des oléosomes. Puis, plus tard, s'organise le sommet végétatif avec la cellule apicale. Cette dernière ne renferme pas d'oléosomes, il faut donc admettre, qu'au cours de la mitose qui lui donne naissance, il se produit une ségrégation de l'ergastome figuré qui est éliminé de la cellule apicale.

Il faut également noter à propos de ces spores pluricellulaires porteuses d'ergastome différencié que la présence de

ce dernier n'est pas synonyme de dégénérescence et de déséquilibre puisque ces cellules peuvent se diviser pour donner naissance à un thalle. GARGEANNE croyait que les mitoses étaient empêchées par la présence des « oléocorps ». Il n'en est rien. DOMBRAY avait déjà cité le cas de la région propagulifère de *Radula*.

Nous ajoutons les nombreuses observations de propagules que nous avons faites. Ces propagules monocellulaires sont évidemment capables de se diviser puisque donnant naissance à des thalles.

Comment expliquer le cycle des substances réfringentes réduites par l'osmium, rencontrées dans les tissus des hépatiques. On nous excusera d'employer un terme aussi vague que celui de « substances réfringentes etc. » c'est, croyons-nous, ce que l'on sait de plus précis sur leur composition. Une étude spéciale en serait nécessaire pour déterminer leur nature exacte dans chaque cas particulier et ce ne saurait être l'œuvre d'un seul chercheur. Nous avons, dès le début, proposé le terme d'ergastome, et scindé ce système en 2 parties. L'analyse des faits nous a montré, en effet, qu'il existait des inclusions osmiophiles de deux natures. Les unes sont toujours de forme sphérique, lorsqu'elles sont figurées. C'est là une première partie de l'ergastome « permanent » ou « mobile ». Les gouttelettes contenues dans le cytoplasme des hépatiques, existent en permanence dans tous les tissus et à tous les stades de leur évolution, c'est ce qui leur vaut le terme d'ergastome permanent. En outre, ces gouttes ne sont pas contenues dans le cytoplasme, à l'état inerte, elles peuvent être utilisées, comme nous l'avons vu, soit dans les jeunes spores, soit dans les élatères, et elles participent enfin certainement à la formation des corps dits « oléiformes » par les auteurs, puisque, dans certains cas, il existe indéniablement une relation inversement proportionnelle entre leur nombre et celui des oléosomes dans les tissus embryonnaires.

L'utilisation des sphérules osmiophiles est particulière-

ment nette dans les tissus du pédicelle du sporogone. Le jeune pédicelle est constitué, lorsqu'il est à l'état de court massif dans les premiers états de son développement, par des cellules de deux ou trois dizaines de μ . Dans certaines espèces, le pédicelle atteint plusieurs centimètres de longueur à l'apogée de sa croissance et est constitué de cellules ayant jusqu'à un millimètre. Les premières cellules sont bourrées de sphérules osmiophiles, les dernières en sont absolument dépourvues.

Les tissus du pédicelle mûr sont très turgescents. Il est vraisemblable qu'au cours de cette poussée végétative les inclusions osmiophiles ont été utilisées et transformées en hydrocarbures solubles à grand pouvoir osmotique.

Revenons à la seconde catégorie d'inclusions osmiophiles représentées par les oléosomes ou oléoplastes des auteurs. Elle représente l'ergastome « transitoire » différencié ou « immobilisé ». Transitoire, parce que n'apparaissant que relativement tard dans l'évolution de la cellule, toujours absent des initiales des méristèmes, des cellules mères des spores. Immobilisé, parce que les substances qui le composent ne rentrent jamais dans le cycle d'utilisation des réserves.

Peut-on rapprocher l'ergastome différencié d'autres éléments connus en cytologie végétale ? En particulier, BOWEN a distingué dans le cytoplasme, une nouvelle catégorie de formations nommées « osmiophilic platelets ». On verra, dans le prochain chapitre, quelle est notre opinion sur ces plaquettes osmiophiles, mais en tout cas, les « éléments de l'ergastome différencié » n'ont rien de commun avec ce nouveau système permanent que BOWEN aurait découvert et qui se transmettrait, par division de cellules en cellules, comme le plastidome ou le chondriome. Il existe, en cytologie végétale, des éléments au moins aussi énigmatiques que ceux de l'ergastome différencié des hépatiques, ce sont les grains de

fucosane dont, jusqu'à présent, ni la composition chimique, ni l'origine exactes n'ont pu être indiquées.

HANSTOEN pensait que les grains de fucosane étaient, en quelque sorte, sécrétés par les plastes, au contact desquels ils prenaient naissance. Cette hypothèse, ressemble, signalons-le en passant, à celle que KOZLOWSKY avait émise, en faisant dériver les « oléoplastes » des gouttelettes réfringentes élaborées par les chloroplastes. D'après H. LE TOUZÉ, c'est à des plastes spéciaux que serait dévolue la fonction d'élaboration de la fucosane. D'après le même auteur, la production de cette substance serait un phénomène irréversible, l'algue ne bénéficiant plus jamais, par la suite, de ces composés entreposés sous une forme insoluble. Il y a là, comme on le voit, dans cette interprétation, une certaine analogie avec ce qui se passe pour les éléments de l'ergastome immobilisé des hépatiques.

MANGENOT après KILYN a assimilé la fucosane à un composé phénolique. Cette composition est différente de celle donnée par LE TOUZÉ qui admettait que la fucosane était primitivement un hydrate de carbone se transformant plus tard en une substance grasse.

La fucosane aurait, selon MANGENOT, une origine vacuolaire et les grains ne viendraient se fixer dans le cytoplasme que secondairement.

Enfin, selon CHADEFAUD, les grains de fucosane ne se formant aux dépens ni du plastidome, ni du vacuome, auraient pour origine de très petits corpuscules visibles dans les jeunes cellules et toujours présents en abondance. Ces organites spéciaux (sans doute rattachables au cytome-chondriome), se multiplieraient par division, en donnant deux lignées différentes par leur destinée. Les uns perdraient la faculté de se diviser, et les autres se perpétueraient au contraire sans altération. Ce seraient les premiers qui donneraient les grains de fucosane.

En somme, le système des grains de fucosane serait permanent, et ceci le différencierait grandement de l'ergastome immobilisé des hépatiques n'accomplissant jamais un cycle fermé et ne naissant pas aux dépens d'organites définis, mais dans certaines zones cytoplasmiques spéciales.

Note. — Au cours de l'impression de ce mémoire, nous avons pu examiner des échantillons de *Fossombronia cristata* que M. G. Chalaud nous avait fait parvenir.

Voici le résultat très succinct de nos observations.

Il n'y a pas dans les cellules de *Fossombronia cristata* de termes de passage entre les gouttelettes banales de l'ergastome mobile, et les éléments de l'ergastome différencié, ou « oléocorps », dont nous avons constaté la présence. Les oléocorps appartiennent à un système bien défini et sont représentés par des éléments assez homogènes qu'une observation superficielle peut assimiler à des sphérules osmiophiles ordinaires.

Dans les spores, ainsi que l'a remarqué G. Chalaud, il existe un abondant matériel osmiophile, mais les substances qui le constituent relèvent uniquement de l'ergastome mobile et n'ont aucun rapport avec les « vrais oléocorps ».

L'étude morphologique des « oléocorps » après fixation osmiée peut donner lieu à des erreurs d'interprétation, ainsi que nous l'avons noté nous-même chez *Frullania tamarisci*, car il se produit des phénomènes de déformation et de destruction libérant plus ou moins les gouttelettes constitutives des éléments de l'ergastome différencié qu'il devient très facile de confondre avec ceux de l'ergastome mobile.

CHAPITRE III

L'ACTION ÉLECTIVE DU NITRATE D'ARGENT SUR LES PLASTES VIVANTS ET LA THÉORIE DU CHONDRIOME HOMOGÈNE CHEZ LES HÉPATIQUES

On connaît les résultats capitaux qu'ont fourni, en cytologie animale, les méthodes d'imprégnation métallique dont GOLGI et CAJAL sont les promoteurs. Le mérite de ces techniques, maintenant qu'on conteste l'existence autonome des structures, est d'avoir provoqué un grand mouvement d'opinion qui a fait avancer notablement les conceptions sur le système cellulaire. En cytologie végétale, il semble que ces méthodes ne sont pas destinées à modifier actuellement les idées admises si les théories de BOWEN, ayant trait à l'existence du système autonome des plaquettes osmiophiles, sont infirmées. Ces derniers résultats ont été contestés par GUILLIERMOND [72] qui a indiqué qu'il ne fallait pas mettre une confiance illimitée, en cytologie végétale, dans les méthodes d'imprégnation osmique. Ses recherches ont montré, une fois de plus, l'extrême polyvalence de l'acide osmique indiquée précédemment par PARAT et d'autres auteurs. Il a ainsi combattu, avec juste raison, la conception de BOWEN qui voit dans les plaquettes osmiophiles un système permanent équivalent à l'appareil de GOLGI.

Cette critique peut d'ailleurs être encore précisée par certaines observations que nous avons souvent faites concernant la déformation très courante des inclusions osmiophiles du cytoplasme lors de la fixation prolongée par l'osmium.

Ce phénomène est très net, par exemple, pour les nombreux globules oléagineux ou d'autre nature, présente dans le pédicule des sporogones. Sur le vivant, on trouve seulement des éléments parfaitement sphériques et homogènes. Après fixation prolongée au Flemming et imprégnation osmique, on constate la présence d'éléments particuliers non visibles *in vivo* (fig. 12, pl. VI).

Ces éléments qui, par leur position correspondent aux globules réfringents, sont, en effet, en forme de croissant, de demi-lune, d'anneau, etc., avec tous les intermédiaires, depuis la simple calotte jusqu'à la sphère entièrement colorée. Il est impossible d'admettre que la fixation et l'imprégnation aient révélé une structure invisible sur le frais où l'on ne voit jamais de globules réfringents anisotropes. Ces aspects, qui sont en somme des artefacts, ressemblent à ceux que BOWEN a observés et décrits sous le nom de plaquettes osmiophiles.

Ces dernières pourraient simplement n'être très souvent que de minuscules inclusions oléagineuses ou lipoïdiques déformées et pas même des éléments du chondriome ayant bénéficié de l'imprégnation.

Dans ces jeunes cellules de pédicelles de sporogones, comme dans celles de la tige feuillée de *Madotheca*, nous avons souvent rencontré de minuscules organistes à côté des globules plus volumineux.

Nous avons déjà vu, en étudiant la genèse des oléocorps chez *Madotheca*, qu'il se produisait très souvent des imprégnations périvacuolaires rendant parfois l'interprétation difficile.

De façon générale, l'application des méthodes d'imprégnation métallique à la cytologie végétale, est rendue difficile par le manque d'électivité ainsi que par la présence de membranes importantes chez les hépatiques, s'imprégnant fortement.

Le phénomène est surtout gênant dans les imprégnations

argentiques, et il ne nous a jamais semblé, lorsque nous utilisions ces dernières, que nous obtenions des résultats susceptibles de nous éclairer plus sur la structure cellulaire, que les méthodes mitochondriales ou de fixation osmique directe. Nul élément, chez les hépatiques, ne nous a paru cependant jouir d'une plus grande électivité pour l'argent que le plastidome ou les produits de son métabolisme.

Les résultats les meilleurs et les plus intéressants, n'ont d'ailleurs pas été obtenus par les techniques classiques d'imprégnation argentique après fixation, mais en utilisant le nitrate d'argent sur du matériel frais, comme réactif extemporané agissant directement, sans fixation préalable.

Les phénomènes sont les suivants : si l'on fait passer sous la lamelle d'une préparation renfermant un fragment de thalle de *Pellia* par exemple, une goutte ou deux d'une solution de nitrate d'argent à 15 p. 100, on voit rapidement les plastes brunir puis noircir de façon plus ou moins complète et homogène. Les plastes se colorent, en effet, soit en masse, soit par calottes, soit par petites plages multiples.

Pour réussir la coloration de ces plastes et surtout celle plus délicate de plastes plus fins situés dans les poils à mucilage il est nécessaire : 1° que le matériel soit en bon état végétatif (du matériel en bon état apparent, mais ayant longtemps séjourné au laboratoire, ne donne parfois aucune réaction).

2° Que, pendant que le nitrate d'argent plasmolyse la cellule et détruit plus ou moins l'organisation cytoplasmique, l'on puisse suivre, sous le microscope, la pénétration du réactif ainsi que la coloration progressive des éléments.

Nous avons utilisé le nitrate d'argent extemporanément sur d'autres matériaux que les Hépatiques : Cryptogames vasculaires, Phanérogames, Algues. Il semble que la coloration des plastes soit un fait assez général. Dans certains cas, chez les algues, ce ne sont pas les plastes, mais les inclusions voisines des plastes qui réduisent le nitrate d'argent ; c'est

le cas des Zygnémées dont le chromatophore est recouvert, de composés phénoliques réfringents noircissant par l'argent. D'ailleurs, dans un grand nombre de cas, la réduction n'est vraisemblablement pas due au plaste lui-même, mais aux produits de son métabolisme.

La vitesse de coloration des plastes oscille entre quelques secondes et quelques minutes, selon l'état végétatif ainsi que les conditions de pénétration du réactif.

L'imprégnation classique à l'argent, après fixation, montre que ces mêmes plastes de *Pellia* sont ponctués d'une foule de grains noirs, et dans ce cas, la coloration paraît surtout provenir de ces sphères minuscules situées à la périphérie du plaste et finissant par le colorer entièrement lorsqu'ils sont en grande abondance.

Ces phénomènes d'action élective du nitrate d'argent employé sur le frais se sont répétés dans un très grand nombre de cas, comme nous le verrons, chez différentes hépatiques et avec des parties du thalle très différentes.

Si nous n'avons pu, faute de temps, établir par des expériences précises, le rôle de la lumière dans ces phénomènes de réduction du nitrate d'argent au voisinage des chloroplastes, nous avons remarqué, à la suite d'observations nombreuses, qu'il existait un rapport évident entre l'intensité de la réduction et l'activité sécrétrice de la cellule.

La réduction paraît être d'autant plus intense que la cellule est douée d'une activité sécrétoire plus spécialisée. C'est ainsi que les plastes prennent plus rapidement et plus intensément la coloration noire dans les cellules de *Marchantiacées* pourvues d'un ergastome, dans les cellules stomatiques de cette même catégorie d'hépatiques ainsi que dans les cellules à mucilage de leurs chapeaux mâles ; enfin, dans les poils tecteurs, en massue, des bourgeons terminaux de nombre de *Jungermanniales*.

C'est surtout dans les poils à mucilage ainsi que dans les poils tecteurs, que nous avons observé des modifications du

plastidome. Nous donnons, pour *Marchantia polymorpha*, plusieurs figures représentant des colorations extemporanées par le nitrate. On les rapprochera des figures données par MORTIER [109] dans l'étude de l'origine des chondriosomes et des chloro et leucoplastes qu'il fit sur le même matériel que le nôtre. On pourra remarquer l'analogie de nos figures avec celle de MORTIER représentant les mêmes cellules, mais l'interprétation que nous en donnons est différente.

Les plastes paraissent être extrêmement modifiés dans ces cellules à mucilage et s'allongent fortement ou perdent presque complètement leur chlorophylle (fig. 6, pl. II). La coloration par le nitrate en est à peu près instantanée quand on s'adresse à du matériel fraîchement récolté. A côté des plastes on trouve souvent des granules de grosseurs différentes, isolés ou plus ou moins en chaînettes. Nous les assimilons volontiers à des microsomes, sinon il faudrait faire l'hypothèse qu'ils ont les plastes pour origine.

Le plus souvent, les plastes invisibles sur le frais, (fig. 7, pl. I) apparaissent après l'action du réactif, groupés autour du noyau en figures superbes. Nous en donnons quelques exemples (fig. 11 [1, 2, 3, 4, 5, 6]).

L'ergastome est représenté dans ces cellules par des globules oléagineux de petite taille, disséminés dans le protoplasme. Le protoplasme est abondant et le vacuome souvent réduit à de petites vacuoles sphériques (fig. 7, pl. I et fig. 6, pl. II). Le nitrate d'argent enfin, dans quelques cas, nous a donné des réseaux ou plus exactement des filaments très allongés et fins, possédant de nombreux renflements. Ces derniers aspects, que nous interprétons sous toutes réserves, nous paraissent être un stade ultime de la destruction des plastes.

Les poils que l'on rencontre au voisinage des points de végétation des *Jungermanniiées*, ont des formes variables, claviformes, elliptiques, sphériques presque, dans certains cas.

Chez *Lophocolea bidentata* (fig. 12), nous avons observé de petits plastes légèrement allongés, au nombre de 15 à 20,

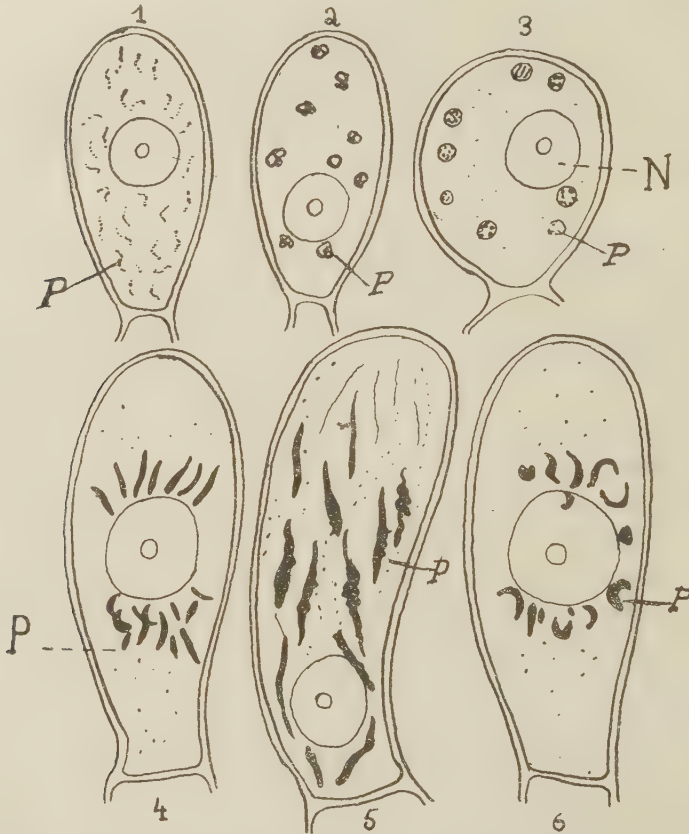


Fig. 11. — Imprégnation élective du plastidome sur le matériel frais par le Nitrate d'argent.

N, noyau ; P, plastes.

1, papille à mucilage d'une jeune feuille de *Radula complanata*.

2 et 3, *Id.* de *Frullania tamarisci*.

4, 5, 6, poils mucigènes dans cryptes anthéridiennes de *Marchantia polymorpha*.

autour du noyau et accompagnés par de petites granulations noires isolées, plus ou moins abondantes.

Chez *Radula* (fig. 11-1) nous n'avons pu observer que des chaînettes de granulations noires, parfois extrêmement rap-

prochées, sans que nous puissions dire si ce sont là des plastes allongés ponctués de dépôts argentiques ou des éléments du cytome ainsi groupés.

Chez *Frullania tamarisci* (fig. 11-2 et 3) les plastes sont au nombre d'une dizaine ; ils ont des aspects plus normaux, ce sont des disques en général, qui peuvent sembler irréguliers car ils sont ponctués nettement de taches d'argent réduit. Chez *Marchantia polymorpha* on trouve aussi de très beaux plastes groupés autour du noyau (fig. 11-4, 5, 6).

MOTTIER [109] qui distingue les chloroplastes des chondriosomes, a examiné au moyen de la méthode Regaud-Hématoxyline, les jeunes poils et rhizoïdes de *Marchantia* ainsi que sa cellule apicale et ses tissus spermatogènes. Que dit-il du chondriome et du plastidome en ce qui concerne les poils tecteurs de l'initiale ?

« In the younger mucilage hair (fig. 5 b) the cytoplasm is very dense, and the chondriosomes primordia are smaller.

There are no chloroplasts in the larger hairs, and the youngest, allstaining bodies distinguishable in the uniform groundwork of the cytoplasm are minute (p. 99). »

Ces mêmes organes traités, sur le frais par le nitrate d'argent, possédaient toujours des plastes, surtout lorsqu'ils étaient jeunes.

Les jeunes rhizoïdes seraient également dépourvus de plastes : « Whether any of the bodies shown in fig 9 are desorganizing chloroplasts, I am unable to say ».

Mais il n'en est rien et ces jeunes rhizoïdes, tout comme les poils à mucilage des cavités anthéridiennes, ont des chloroplastes typiques à l'origine et pendant une durée plus ou moins longue de leur développement, à la fin duquel ils finissent par être détruits. Dans les éléments spermatido-



Fig 12. — *Lophocolea bidentata*.
— Imprégnation élective du plastidome par le nitrate d'argent sur le matériel frais.

gènes, il n'y aurait pas de plastes, d'après MOTTIER, ces derniers disparaissant dès la différenciation des cellules de la lignée spermatogène; les plastes régresseraient et seuls seraient présents, les chondriosomes.

On verra que MOTTE a fait partiellement sienne cette opinion en admettant non seulement une régression du plastidome, mais aussi sa transformation en chondriome homogène.

CHALAUD [24], qui a consacré dans son mémoire sur *Fossombronina pusilla*, une étude partielle à la cytologie des poils tecteurs et des poils ou papilles à mucilage, donne quelques indications. Il remarque un développement extrême du vacuome que nous n'avons pas toujours noté dans les cas que nous avons examinés. Il est probable, d'ailleurs, que l'état du vacuome doit être assez variable dans ces organes. Remarquons qu'il est parfois assez difficile d'en obtenir de bonnes colorations vitales, le colorant ne pénétrant, dans ces poils, que longtemps après son arrivée dans les cellules voisines.

La densité de la métachromatine est variable et l'on peut, dans certains cas, trouver non de vraies vacuoles dans ces organes producteurs de mucilage, mais des chromidies dont la substance est extrêmement concentrée. Ces faits sont visibles en particulier chez *Madotheca platyphylla* (fig. 7, pl. I, fig. 6, pl. II).

CHALAUD (fig. 218, p. 196) a remarqué au moyen de la méthode Regaud-Hématoxyline, la présence d'éléments en bâtonnets ou sphériques dans une cellule en train de se transformer en papille mucifère. L'auteur ne paraît pas faire de distinction parmi les éléments fixés au Regaud, les rangeant indifféremment dans le chondriome sous le nom de « chondriomites ». On verra au chapitre spécial traitant cette question que CHALAUD a été conduit à une interprétation analogue dans les cas des tissus spermatogènes.

Il dit (p. 207) : « Dans les cellules se transformant en papilles mucilagineuses, on voit disparaître les plastes, et apparaître les divers éléments du chondriome. »

Une telle assertion ne nous a pas paru se vérifier et il ne nous semble pas possible de tirer partie des images observées en faveur de la théorie d'un chondriome homogène à laquelle CHALAUD ne paraît pas absolument adhérer, puisqu'il indique dans les conclusions cytologiques de son travail sur *Fossombronina pusilla* que la régression du plastidome ne se produit pas au cours de la sporogénèse. Les plastes seraient présents en effet chez cette hépatique dans les « tétradcocytes avant et après la réduction chromatique, puis dans la spore mûre, et ils paraissent provenir directement des plastes rencontrés dans les tissus de l'embryon ».

Comment expliquer le noircissement des plastes sous l'influence du nitrate d'argent ? A quoi est due la réduction plus particulièrement intense de ce sel ? Nulle part, en effet, dans le protoplasme environnant, on ne constate l'apparition de dépôts d'argent réduit, dans un laps de temps aussi court. BUSCALIONI a attribué aux lipoïdes contenus dans les plastes, sous la forme de gouttelettes réfringentes, un rôle important dans le métabolisme général du plaste vert. Selon cet auteur, ces granulations lipoïdes fixeraient l'oxygène durant la décomposition du gaz carbonique et cet oxygène cédé, par la suite, servirait à former la *Xanthophylle* et la *Carotine* par oxydation des dérivés chlorophylliens.

Nous faisons remarquer en passant que ces granulations graisseuses contenues dans les plastes ne sont pas rares chez les hépatiques.

MEYER [100], d'autre part, a soutenu que les plastes renfermaient non des graisses neutres et des lipoïdes mais des composés aldéhydiques tels que l' α et β *Héxylène Aldéhyde*, mélangée à des acides et à des *Aldehydes acycliques*. GUILLIERMOND et MANGENOT ont contesté ces résultats, la réaction de SCHIFF étant négative.

L'existence de l'*Aldéhyde* comme premier produit de synthèse a, par ailleurs, été très souvent soutenue. Il n'est pas impossible d'admettre une part de vraisemblance en ce qui

concerne les deux hypothèses de BUSCALIONI et de MEYER.

La chimie biologique animale montre qu'il est difficile de séparer le métabolisme des corps gras du métabolisme des hydrates de carbone. Il est possible qu'au cours de la transformation des lipoides des plastes, apparaissent des aldéhydes à longue chaîne.

VERNE [145] a montré, en cytologie animale, par l'emploi de la réaction de SCHIFF, qu'il se formait, à l'état normal, des composés aldéhydiques aux dépens de lipides non saturés (glande surrénale).

Il est possible qu'au cours de la transformation des lipoides des plastes, apparaissent des acides gras et des aldéhydes à longue chaîne. Ce seraient ces composés réducteurs qui ramèneraient le nitrate à l'état d'argent métallique.

Nous ne pensons pas que la lumière intervienne directement dans le phénomène comme sensibilisateur optique ; en effet la réduction du nitrate d'argent se produit avec le maximum d'intensité dans des organes non chlorophylliens comme les papilles à mucilage. Les plastes qui y sont contenus sont généralement absolument incolores. Des plastes très verts pris dans une feuille adulte quelconque de la même préparation, se colorent moins intensément. La lumière intervient certes, mais indirectement puisque c'est elle qui conditionne les processus chlorophylliens. Ainsi, la réduction du nitrate correspondrait à certains stades de la vie du plastidome et, selon nous, serait dû à l'action des produits de l'activité du plaste plutôt qu'à ce dernier lui-même. Les plastes variqueux des papilles à mucilage, d'abord chlorophylliens comme tous les plastes avant leur dégénérescence ou leur modification, peuvent céder au cytoplasme diverses inclusions résultant de leur métabolisme, et c'est ce qui expliquerait les aspects observés par CHALAUD et MOTTE interprétés comme une transformation des plastes en chondriocotes ou cytosomes. En réalité, dans les papilles mucilagineuses, les plastes sont doués d'une activité spéciale,

toute la cellule étant elle-même orientée dans un sens sécréteur. P. A. DANGEARD a insisté sur la difficulté qu'il y avait dans certains cas (et en particulier chez *Chlamydomonas, variabilis*) à distinguer les produits du métabolisme, d'éléments permanents dans la cellule, surtout lorsqu'on emploie des fixateurs comme le Regaud (à action très prolongée) ou le Fleming, susceptibles de conserver tout le contenu cellulaire. A notre avis, les observations de MOTTIER, MOTTE, CHALAUD, relatant chez les hépatiques la transformation des plastes en chondriocentes, soit dans des poils ou diverses papilles, soit dans des cellules spermatogènes et tendant à faire renaître la conception d'un chondriome homogène donnant indifféremment naissance au plastidome ou au cytome, sont justiciables de cette explication. Il n'y a, à notre avis, qu'un endroit du végétal où les observations soient susceptibles de fournir des résultats définitifs : c'est la cellule apicale. Jamais dans cette dernière, observée sur le frais, nous n'avons réussi à mettre en évidence, par le nitrate d'argent, des formations filamenteuses ou granuleuses comparables à un chondriome homogène. S'il y avait vraiment retour au chondriome homogène dans le cas des papilles, on comprendrait mal pourquoi ce dernier se comporterait différemment suivant qu'il s'agirait de tissus embryonnaires ou de ceux appartenant à la lignée spermatique.

CHAPITRE IV

LA SPERMATOGÉNÈSE NORMALE CHEZ *MARCHANTIA POLYMORPHA* ET *FEGATELLA CONICA*

On ne relève que quelques noms d'auteurs français dans la vaste bibliographie qui concerne les problèmes de la spermatogénèse des végétaux. Sans remonter aux travaux fondamentaux de THURET [140 *ter*] nous citerons GUIGNARD [66], MANGENOT [95 *bis*], DANGEARD [37], MOTTE [108] et CHALAUD [24].

La question de la spermatogénèse fut en général surtout travaillée par des auteurs anglais et allemands aux travaux desquels nous aurons à faire plus d'une fois allusion au cours de cet exposé.

P.-A. DANGEARD a repris en 1924 la question de la spermatogénèse chez les hépatiques en étudiant les anthéridies de *Marchantia polymorpha* au point de vue des constituants du cytoplasme, ouvrant ainsi une nouvelle ère de recherches en ce qui concerne la gamétogénèse de ces cryptogames.

MOTTE, ensuite aborda le problème de la spermatogénèse des muscinées et des hépatiques avec des techniques également modernes et le désir d'interpréter lui aussi les faits à la lueur des progrès faits par la cytologie dans les domaines connexes. MOTTE a systématiquement nié les résultats de P.-A. DANGEARD notamment en ce qui concerne la persistance du plastidome dans l'œuf et les tissus spermatogènes de *Marchantia polymorpha*. Mais pour si homogène que soit la théorie que MOTTE ait proposée, on verra qu'elle est extrêmement discutable et qu'il est malaisé d'en retenir quelque

chose en examinant les phénomènes d'une façon serrée.

Aussi nous sommes souvent en controverse avec cet auteur et notre interprétation des faits fondamentaux de la spermatogénèse des hépatiques, est sur plus d'un point radicalement différente.

PREMIÈRE PARTIE

Cytologie de la lignée sexuelle mâle jusqu'à l'avant dernière mitose inclusivement (1).

A. LE NOYAU ET LES PHÉNOMÈNES CARYOCINÉTIQUES.

Nous nous en sommes tenu, à l'exclusion de certaines observations faites sur *Fegatella conica*, à l'examen des phénomènes de la spermatogénèse chez *Marchantia polymorpha*. C'est volontairement que nous avons laissé de côté les anthéridies des Jungermanniées, car il nous a paru que, pour un travail de mise au point d'un sujet aussi controversé, il était préférable de faire converger les efforts sur un unique objet dont on devait essayer d'obtenir une connaissance aussi parfaite que possible. Les chapeaux mâles de *Marchantia polymorpha* constituaient un matériel de choix, étant donné la communauté de l'espèce, la manipulation facile d'objets relativement volumineux, comme le sont ces réceptacles même divisés en deux pour la fixation et l'inclusion; de plus, et c'est là l'essentiel, *Marchantia polymorpha* est une des hépatiques qui a été le plus étudié au point de vue de la spermatogénèse et qui bénéficie à ce titre d'une riche bibliographie où les points de vue les plus différents des auteurs se sont affrontés. C'est pourquoi *Marchantia polymorpha* constitue, en quelque sorte, le matériel de référence et de

1. Nous nommerons souvent au cours de cet exposé : « cellules spermatidogènes » les cellules de la lignée sexuelle mâle jusqu'à la dernière mitose exclusivement.

comparaison auquel on peut toujours faire appel dans ce genre de recherches.

Structure du noyau quiescent des cellules spermatidogènes.

C'est là une question simple, en apparence, mais cependant il sera nécessaire de nous y attarder, car les auteurs ont donné des descriptions tout à fait contradictoires de l'état des noyaux au repos dans les cellules spermatidogènes.

Le noyau quiescent des cellules somatiques de *Marchantia polymorpha* montre, après une fixation au liquide de Bouin, un nucléole mûriforme ou homogène selon les cas.

La fixation au liquide de Flemming est souvent responsable, nous le verrons, d'aspects anormaux constatés dans le noyau. La caryolympe se coagule et se rétracte, semble-t-il autour du nucléole ou du système nucléolaire et finit par ne plus former avec ces derniers qu'une grosse masse compacte séparée de la membrane nucléaire. Ce sont ces aspects qu'a probablement décrits IKENO [76] qui s'était servi du fixateur de Flemming. Généralement, nous avons rencontré dans les cellules somatiques de *Marchantia*, un nucléole plus ou moins mûriforme. Si le Bouin, le Picro-Formol pur, dans certains cas, provoquent l'apparition de pseudo-structures nucléolaires provenant de la coagulation avec rétraction et scindement en plusieurs masses de la nucléoline, tous les aspects de nucléoles mûriformes ne sont pas dus à cette cause, et il se présente nettement au moment des prophases, des auréoles de chromatine granulaire entourant le nucléole principal.

Le nucléole est relativement volumineux chez *Marchantia* et le rapport nucléolo-nucléaire élevé. Ceci est surtout manifeste dans les cellules renfermant les jeunes éléments de l'ergastome différencié, ainsi que dans les cellules trapues et renflées donnant naissance aux rhizoïdes, ou aux poils à mucilage. On peut remarquer, dans ces cellules, un nucléole très

développé, fragmenté en plusieurs sphères réunies par des bandelettes chromatiques; le tout donnant au noyau un aspect prophasique (fig. 13).

Que devient le noyau dans les cellules spermatidogènes ? La cellule initiale nous a toujours échappé, et nous n'avons aucun renseignement personnel à fournir sur son noyau qui

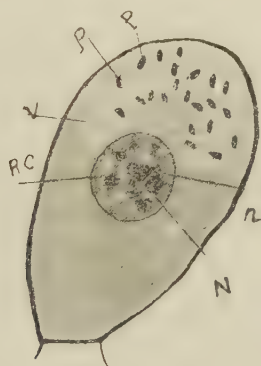


Fig. 13. — *Marchantia polymorpha*. — Très jeune rhizoïde. Regaud, Hématoxyline.

N, noyau; n, nucléole; V, vacuoles; P, plastes.

doit, il est vrai, être semblable à ceux des cellules spermatidogènes plus âgées auxquelles il donne naissance par division.

Les premières cellules du jeune massif anthéridien conservent, un certain temps, un rapport nucléoplasmatique normal mais, au moment où se différencie l'assise pariétale destinée à devenir l'enveloppe de l'antéridie, le noyau occupe, dans les cellules centrales, devenues cellules spermatidogènes, une place plus importante. Peu à peu, le noyau refoule à la périphérie le cytoplasme et ses inclusions, aussi le rapport nucléoplasmatique des cellules spermatidogènes est-il plus élevé, dans ces éléments, que dans les cellules somatiques. Si la taille diffère, la structure est sensiblement la même dans les deux cas et le nucléole est généralement mûriforme et composé de trois à cinq éléments, ou bien uni-

que et relativement sphérique et régulier (fig. 2 et 3, pl. 4). Les autres aspects indiquent des états de cinèse plus ou moins avancés. En somme, selon les cas, il y a un nucléole net ou un système nucléolaire composé d'un nucléole possédant des auréoles de chromatine que l'on pourrait homologuer à celles que l'on rencontre dans les cellules quiescentes de *Pellia epiphylla* et dont nous reparlerons plus loin.

Le noyau conserve-t-il cette structure typique jusqu'au stade spermatide dont l'étude constitue la deuxième partie de ce chapitre ? On peut répondre par l'affirmative. Nous n'avons jamais constaté, durant les périodes de repos, d'autres modifications que des variations de chromaticité considérables d'ailleurs, et ce sont sans doute ces dernières, malencontreusement doublées de techniques défectueuses qui ont pu faire croire à certains auteurs, soit à l'homogénéité du noyau et à l'absence de nucléole, soit à une disparition progressive de ce dernier.

Le noyau au repos est parfois, en effet, difficilement colorable chez *Marchantia polymorpha* ou *Fegatella conica*, mais même, dans le cas d'une mauvaise fixation, ou d'une coloration n'ayant pas donné de bons résultats, on se rend compte que le noyau n'est pas homogène, et possède un nucléole. Il faut, à cet égard, se défier des fixations osmiées suivies d'une triple coloration dite de Flemming, techniques que les auteurs ont souvent utilisée.

Le nucléole ne disparaît, disons mieux, ne devient invisible qu'à un stade de la prophase difficile à déterminer exactement, et encore cette disparition ne se fait-elle qu'après une considérable et préalable augmentation de volume (fig. 14). Nous verrons d'ailleurs, au cours de l'étude de la cinèse, combien il est difficile de suivre les destinées du nucléole.

Les opinions des auteurs sur l'état de la chromatine dans les noyaux des cellules spermatidogènes, sont très variables et si, pour les uns, il existe un nucléole vraiment défini correspondant à ce qu'on trouve ailleurs en général chez les

végétaux, pour les autres, il s'agit seulement d'une masse centrale de chromatine de dimensions variables. Cette masse est plus ou moins en rapport, avec le réseau achromatique et certains auteurs envisagent sa participation directe à la formation du chromosome, le stade correspondant au spirème n'existant pas.

La difficulté est d'établir exactement la chronologie des

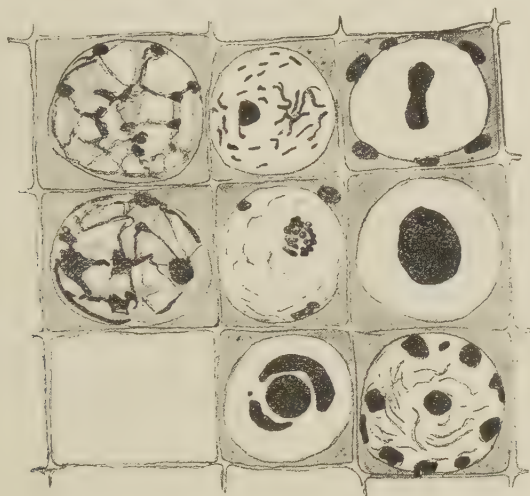


Fig. 14. — *Marchantia polymorpha*. — Bouin, Hématoxyline.

Stades divers de prophase.
Gonflement du nucléole et mobilisation de chromatine périnucléolaire.
Formation du réseau chromatique avec nodules.
Couronne chromatique périphérique précédant l'apparition du spirème discontinu.

images que l'on observe, et nous sommes persuadé que, dans plus d'un cas, les auteurs ont fait cette estimation de façon arbitraire. Loin de nous de vouloir leur en faire grief, car nous estimons que le nombre des cas litigieux est considérable.

Les observations des auteurs et les nôtres nous autorisent à conclure que les cellules de la lignée spermatique des hépatiques possèdent généralement un noyau nucléolé. Les auteurs paraissent avoir très souvent pris de jeunes prophases manifestant un gonflement nucléolaire, pour des

stades quiescents. Le nucléole peut revêtir des aspects divers, surtout avant la mitose ; il est très plastique et joue le rôle de réserve de chromatine utilisée plus ou moins directement au cours de la prophase. La membrane nucléaire des noyaux quiescents n'est pas toujours très visible, mais elle est bien visible à la prophase et son absence ou sa présence ne sauraient dépendre de l'action du fixateur.

Est-il possible de faire une distinction entre le nucléole proprement dit et les granules satellites qui l'accompagnent très souvent ? Les méthodes polychromes ne permettent pas de dire s'il existe des différences bien tranchées entre les éléments du noyau au repos, car l'électivité n'est pas sûre. De façon générale le réseau, dit achromatique, se colore en vert pâle, sous l'influence du vert lumière, et le nucléole principal en rouge par la fuchsine acide.

Y a-t-il dans les cellules spermatidogènes au voisinage du noyau au repos ou à l'intérieur de ce dernier un ou plusieurs corps centraux, comme IKENO [76] et CHALAUD [24] par exemple, l'ont décrit dans leurs figures ? Les dessins d'IKENO, nous indiquent en effet un noyau au repos avec un centrosome volumineux dont la grosseur même nous est fortement suspecte. Nous formulons simplement un doute, à ce sujet, sans vouloir nier. Pour notre part ayant observé des centrosomes au cours de la dernière mitose, nous ne pouvons les rapprocher de ceux dont IKENO a mentionné la présence.

Le noyau, au repos, des cellules spermatidogènes ne nous paraît donc pas renfermer de centrosomes.

La prophase, d'après les différents auteurs.

SHOTTLANDER, signalait déjà chez *Aneura*, une prétendue disparition du nucléole au cours de la spermatogénèse.

IKENO qui a fixé et coloré *Marchantia* par les méthodes de Flemming, indique des noyaux dépourvus de nucléoles.

Les figures d'IKENO peuvent être suspectées, ainsi que l'interprétation qu'en donne l'auteur : en effet, les noyaux ont l'air vésiculisés. D'autre part, il représente une grosse masse chromatique centrale que nous avons nous-même observée et qui semble ne pas être autre chose qu'un nucléole très volumineux, comme on en rencontre parfois, avant la prophase (fig. 14). MOTTE [108], chez *Pellia epiphylla*, n'a pas observé de nucléole, et constate la présence de ce qu'il appelle « un gros caryosome unique » dans les cellules initiales spermatogènes, disparaissant d'ailleurs au cours de l'évolution. Le « distinguo » entre « caryosome unique » et nucléole paraît assez subtil. Le même auteur indique, qu'après fixation au liquide de BATAILLON, on ne distingue pas de nucléole dans les noyaux des cellules spermatidogènes de *Fegatella conica* à l'état quiescent, mais seulement une structure réticulée.

Nous avons étudié la même hépatique avec le fixateur de Flemming et avons toujours constaté la présence d'un nucléole typique et bien défini, même au cours des phases critiques d'hypochromaticité caractérisant les noyaux au repos.

Chez *Fossombronia*, HUMPHREY [74] puis CHALAUD [24] ont trouvé un nucléole.

W. L. WOODBURN [152] (1) qui a étudié, entre autres hépatiques, le *Marchantia polymorpha* a trouvé un nucléole parfaitement net et typique, il le représente de forme sphérique. Peut-être est-ce un peu exclusif et généralisé, car pensons-nous, il y a des états et non un état du système nucléaire.

D'après WOODBURN, la prophase ne comprendrait pas de stade spirème proprement dit, les chromosomes s'organisant à partir d'un réseau de chromatine de plus en plus dense constitué par ce que l'auteur nomme : *lumps of chromatin*. La destinée du nucléole ne peut être suivie. Cette descrip-

1. Fig. 25 et 25 a.

tion est inexacte, en ce qui concerne le spirème. Il existe un spirème qui a échappé à WOODBURN qui n'a vu que le réseau, aux dépens duquel se constitue le spirème d'ailleurs discontinu de *Marchantia* (pl. 4, 5 à 10).

Chez *Blasia* comme chez *Marchantia* WOODBURN [153] (1) a vu un nucléole dans les noyaux « in a resting condition ». Ce nucléole persiste assez longtemps, au cours de la cinèse, mais devient de moins en moins colorable, alors que les éléments précédant les chromosomes, le deviennent de plus en plus.

Chez *Mnium affine ciliare*, WOODBURN (2) décrit un nucléole comparable à celui de l'espèce précédente et des phénomènes de prophase analogues. Il n'en est pas de même pour *Asterella hemisphaerica* (3), les cellules spermatidogènes possèdent bien un nucléole, mais ses destinées sont différentes de ce que nous avons vu précédemment. Le nucléole situé dans une auréole incolore ne perd pas sa chromaticité, et l'on voit se constituer, à la périphérie du noyau, une garniture chromatique. Celle-ci, à un stade ultérieur, s'accumulerait autour du nucléole, si bien qu'en définitive, toute la chromatine serait condensée au centre du noyau et en masse indistincte d'où les chromosomes prendraient naissance d'une façon très obscure, sans qu'on puisse bien marquer de stades de transition comparables à un spirème. Nous avons vu chez *Marchantia* des images que nous assimilons à celles-ci : 1° nous avons souvent rencontré une garniture chromatique nucléaire périphérique ; 2° des tassements considérables de chromatine, au centre du noyau. D'après nous, le stade de garniture chromatique périphérique ne prépare pas le tassement central périnucléolaire, mais en dérive ; la caractéristique des formations prophasiques avancées étant justement très souvent cette accumulation de chromatine contre

1. Fig. 1.

2. Fig. 1 et 3.

3. Fig. 1, 2, 3, 4, 6, 7.

la membrane nucléaire où s'accôle le spirème qui se forme un peu plus tard.

Quoi qu'il en soit, WOODBURN ne représente jamais la persistance du nucléole au cours des mitoses et il semble, qu'il s'agisse des processus qu'il a décrits chez *Marchantia*, *Blasia* ou *Mnium affine ciliare*, d'une part, chez *Asterella*, d'autre part, que le nucléole joue un certain rôle dans l'élaboration du réseau chromatique et du spirème, soit qu'on le voit se décolorer, comme dans les trois premiers cas, soit comme dans le dernier, qu'il y ait réellement un échange de substance avec le matériel chromatique de la garniture externe.

WALKER [148] (1) a décrit chez *Polytrichum* un noyau avec un nucléole simple ou entouré d'un important réseau chromatique. Le noyau d'ailleurs, conclut l'auteur, est peu différent de celui des plantes supérieures, mais il s'établirait à la prophase d'importantes connections entre le nucléole et le réticulum qui l'entoure ; aussi finalement « the whole chromatin is passed to the réticulum » et il n'y a pas de spirème. On voit, dans les figures de l'auteur, un simple réseau épais et jamais on ne peut y trouver de filaments à extrémités libres. L'image des rapports entre nucléole et réticulum chromatique, selon WALKER, nous paraît plus exacte que selon WOODBURN. Mais, d'après WALKER, une importante partie de la substance du nucléole serait ainsi directement transférée aux chromosomes, qui, en accord avec la théorie de VAN J. et W. LEEUWEN-REIJNVAN [89 bis] dériveraient purement du nucléole. Ces deux derniers auteurs admettaient que le nucléole se fragmente et que chaque portion devient un chromosome.

BLACK [10] a décrit chez *Riccia Frostii* (2) un nucléole et s'est refusé, on ne sait pour quelle raison, à l'assimiler à un nucléole. (Nor was any stage found where a definite nucléolus could be distinguished. The most common condi-

1. Fig. 1 et 3.

2. Fig. 40 et 41.

tion is that shown in fig 40). Cependant, il s'agit là à coup sûr d'un nucléole mûriforme de même nature que celui de *Marchantia*.

CHALAUD a rencontré, au cours de son étude des mitoses somatiques chez *Fossombronia*, des plaques équatoriales avec des chromosomes bien formés et possédant néanmoins encore un nucléole.

Nous avons étudié la division nucléaire (fig 7 planche 6) dans les spores pluricellulaires de *Pellia épiphylla* à germination précoce, matériel de choix pour ces recherches et qui fut déjà l'objet des investigations de DAVIS [41].

Si le nucléole n'existe pas réellement, au stade de la plaque équatoriale, dans ce cas du moins, sa disparition est aussi tardive à la prophase, que sa réapparition est précoce à la télophase (Fig. 4, 5, 6, 7. Pl. VI).

Il n'y a pas, dans *Pellia*, de spirème continu, ; le réseau achromatique se colore, de plus en plus, à ses nœuds et constitue le spirème par condensation de bandelettes et de plages de chromatine, de tailles variables, d'abord collectées à la périphérie du noyau. Ce spirème discontinu reste d'ailleurs accolé à la membrane nucléaire, durant la majeure partie de son évolution. Mais il ne semble pas que le nucléole demeure absolument passif au cours de la mitose chez *Pellia*. En effet, si le noyau au repos possède un nucléole net, sans formations accessoires, à part le réseau achromatique, on constate dès l'extrême début de la prophase et avant même que le réseau achromatique ne commence à se colorer, apparition autour du nucléole, de un ou deux capuchons chromatiques plus ou moins gros et de sphères chromatiques de

¹ 1. Les phénomènes de prophase et de caryocinèse en général tels que nous les avons décrits paraissent être généraux dans toutes les hépatiques et être identiques dans les tissus spermatogènes et les tissus somatiques. Dans ces derniers GRAHAM a suivi la prophase chez *Preissia commutata*, et trouvé un noyau à nucléole et à réticulum très net. Il se forme un véritable spirème discontinu durant la prophase comme CHALAUD, par exemple et nous même, en avons observé dans les cellules spermatogènes. GRAHAM (63 bis) a indiqué également que le nucléole persistait très tard jusqu'au moment de la formation des chromosomes. Mais d'après ce dernier auteur le nucléole contribuerait à constituer le fuseau achromatique.

moindre importance, qui semblent indépendants du réseau et dépendants du nucléole (fig. 7 A pl. 6). Ces masses paranucléolaires participeraient d'abord à la constitution du spirème. Ce n'est que très tard que le nucléole, à proprement parler, interviendrait pour son propre compte. Comment disparaît-il ?

N'ayant pas assisté à ce phénomène nous ne dirons rien à ce sujet.

Description de la prophase.

A l'état quiescent, que nous avons décrit, succède une période de mobilisation de substances chromatiques du noyau, précédant immédiatement la prophase proprement dite. Il s'agit de phénomènes trophiques généraux se manifestant en tous points du noyau, sans qu'on puisse établir de règles absolues pour leur localisation, et leur succession et aboutissant au retour des matériaux nucléaires à une chromophilie normale. Le noyau augmente assez fortement de volume, et ce phénomène sensible chez *Marchantia* est plus marqué chez *Fegatella*.

C'est par une augmentation d'activité du système nucléolaire, que débute donc la prophase (fig. 14 du texte. Fig. 1, 4, 14, 15. Pl. 4). Le nucléole augmente de volume ou s'entoure d'un plus ou moins grand nombre de satellites.

Le réseau achromatique, cependant, devient plus colorable (fig. 5, 6 et 7. Pl. 4) ; les satellites nucléolaires se dispersent et contribuent plus ou moins directement à former le réseau chromatique de prophase. Ainsi le nucléole semble rassembler autour de lui, dans une première période, de la prophase, les éléments chromatiques épars et les céder ensuite au réseau. Le nucléole jouerait, dans ce cas, un rôle vraiment actif dans la cinèse. Le réseau chromatique aboutit, par condensation à la périphérie du noyau (fig. 6, 7, 8. Pl. 4), à un spirème discontinu qui, lui-même, donne les chromosomes. Ainsi que l'on pourra s'en rendre compte en exami-

nant nos figures de la Pl. 4 relatives à la prophase, il existe une certaine variété dans les formes des éléments chromatiques figurés que l'on rencontre au cours de la division.

Il s'agit en réalité d'un certain dimorphisme dont nous résumerons l'essentiel en quelques mots. Le réseau chromatique, le spirème discontinu, les chromosomes eux-mêmes, ne paraissent pas avoir des dimensions constantes. Nous avons retrouvé ces faits avec des fixations différentes et d'une façon constante, il ne s'agit certainement pas d'une action des réactifs utilisés pour la conservation de la cellule. On trouve, le plus souvent, des réseaux chromatiques épais et normaux, mais il existe également un certain nombre de réseaux chromatiques fins (fig. 11, 12, 13, Pl. 4). De même, on comparera les chromosomes épais et normaux des figures 17, 18, 19 et 20 avec les chromosomes filamenteux de la fig. 29 Pl. 4 (1).

Jusqu'à quel stade de la prophase persiste le nucléole ? Dans les préparations colorées par la fuchsine acide et le vert lumière, qui permettent dans une certaine mesure la différenciation des éléments chromatiques, on distingue quelquefois, alors que les chromosomes colorés en vert, sont déjà formés, une petite masse sphérique colorée en rouge. Que représente cette masse ? Est-ce le nucléole ? Ce n'est pas impossible. En tous cas, ce corpuscule disparaît ultérieurement sans qu'on puisse savoir de quelle façon. Ainsi, il paraît difficile, malgré quelques observations probantes faites çà et là, d'envisager le nucléole chez *Marchantia* comme un système permanent franchissant toutes les étapes de la mitose.

Chez *Fegatella conica*, les phénomènes prophasiques sont

1. NOTA : les chromosomes de *Marchantia* peuvent être également globuleux (1 fig. 23 dans le texte). Il semble qu'IKENO (76) avait remarqué des faits de dimorphisme des chromosomes, analogues à ceux que nous avons décrits. Il suffit de consulter les figures X, XI, XII du mémoire cité pour s'en convaincre. La fig. X représente des chromosomes en fer à cheval et épais comme on rencontre généralement. La fig. XI qui représente une anaphase, et la fig. XII une métaphase montrent des chromosomes beaucoup plus ténus.

analogues. Les caractéristiques principales sont toujours :

- 1° Augmentation de volume du système nucléolaire ;
 - 2° Formation d'un réseau chromatique ;
 - 3° Condensation du réseau en un spirème non continu ;
 - 4° Nucléole disparaissant probablement en fin de prophase
- (Fig. 15).

Durant toute la prophase la membrane nucléaire chez

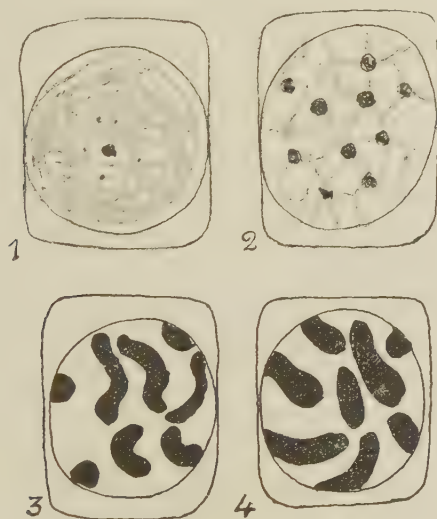


Fig. 15. — *Fegatella conica*. — Cellules spermatidogènes.
Fixation et triple coloration de Flemming.
1, Noyau au repos.
2, Organisation du réseau chromatique.
3 et 4, prophases.

Marchantia et *Fegatella* demeure absolument intacte et aucun des granules chromatiques présent dans le noyau ne mérite le terme de centrosome. En particulier, il y a souvent à la périphérie du noyau de petits grains punctiformes, mais il paraît pour le moins téméraire, de faire une distinction parmi eux et d'en choisir deux pour en faire des corps centraux. En outre, on n'observe jamais cette migration de gros centrosomes qu'a indiquée IKENO. Les prophases

des mitoses de prématuration paraissent donc toujours se faire sans le secours de centrosomes.

Les chromosomes définitivement constitués, après condensation du spirème discontinu sont au nombre de 8 chez *Marchantia* comme chez *Fegatella*. Ce chiffre peut être établi avec une certitude quasi absolue (Fig. 17, 18, 19, 20 et 29. Pl. 4). Certains auteurs ont parfois indiqué dans leurs figures un nombre inférieur à 8, mais il s'agit toujours d'ailleurs de mitoses vues de profil et dans ce cas on ne peut voir que 4 à 5 chromosomes.

Nous avons signalé plus haut le dimorphisme chromosomique que l'on rencontrait parfois. Correspond-il à certains phénomènes de la vie du végétal ; est-il en rapport avec une détermination du sexe dans certains spermatozoïdes mûrs ? Il serait peut-être intéressant de vérifier si ce dimorphisme est constant.

Il peut également y avoir entre les chromosomes d'une même division des différences de taille assez fortes, mais il ne nous a jamais semblé que ces différences étaient assez importantes et constantes pour nécessiter l'introduction de la notion d'hétérochromosome. Certains auteurs auraient trouvé chez les hépatiques un chromosome supplémentaire. C'est là une question bien délicate, étant donné l'extrême petitesse du matériel et l'aspect parfois très embrouillé des plaques équatoriales vues de face, d'après lesquelles se font les numérations. Nous notons, en passant que les chromosomes sont généralement réguliers, légèrement arqués, en forme de V, la concavité étant tournée vers l'extérieur, enfin ils chevauchent très souvent l'un sur l'autre. Mais quelquefois les chromosomes sont très flexueux et forment des anses multiples ce qui fait que, dans ce cas, la numération peut évidemment conduire à des résultats apparemment aberrants. Peut-être le chromosome supplémentaire remarqué n'est-il autre chose que le nucléole persistant fort tard au cours de certaines mitoses.

La métaphase. — Il y a peu à dire sur la métaphase. Le fuseau est homogène ou non, mais il n'est pas prouvé que les fibres fusoriales soient réellement un artefact, comme le pensent certains auteurs. Le fuseau se forme normalement aux dépens de la substance achromatique du noyau et sans qu'intervienne aucun corps central pendant son étirement.

Chez *Marchantia polymorpha* les fuseaux ont, en général, des extrémités nettes et plus ou moins effilées ; chez *Fegatella*, elles sont tronquées.

Certaines figures de WOODBURN concernant *Marchantia* paraissent se rapporter à des fuseaux d'aspect aberrant, comme nous en avons quelquefois rencontré ; ces fuseaux ont des extrémités peu nettes. En outre, ces fuseaux ne semblent pas mériter leur réputation d'achromaticité, ils se teignent toujours assez fortement et possèdent des fibres. Ils ont aussi un aspect souvent dichotomique à leurs extrémités qui sont alors plus ou moins tronquées. Certains dessins de WOODBURN correspondent à ce que nous avons observé dans certains cas, c'est-à-dire que les extrémités fusoriales ne possèdent pas des pôles nets, mais plusieurs pôles secondaires, chacun d'entre eux correspondant à un certain nombre de fibres achromatiques. Ces fuseaux anormaux, à extrémités tronquées, possèdent parfois des corps chromatiques volumineux à leurs extrémités. Ce sont là, d'après nous, des plastes, plus ou moins bien conservés par la fixation. WOODBURN et MOTTE se sont refusés à faire de ces éléments des corps centraux et nous nous rallions nous-même à cette interprétation. Ces corps se retrouvent d'ailleurs dans les divisions normales ainsi qu'à la dernière mitose.

MOTTE a systématisé cette interprétation, exacte dans le cas des cellules spermatidogènes, et assimilé, sans exception, tous les centrosomes décrits jusqu'à ce jour chez les hépatiques, à des capuchons du *Chondrioplastome*. Nous verrons en temps et lieu ce qu'il faut penser de cette interprétation.

Les aspects de fuseaux anormaux ne sont pas des artefacts provoqués par l'action des réactifs fixateurs mais correspondent à la réalité. Les anomalies mitotiques ne doivent plus nous surprendre car il existe très souvent dans les chapeaux mâles du *Marchantia polymorpha* un champignon parasite agissant activement sur la gamétogénèse.

L'anaphase et la télophase. — Les chromosomes se clivent et se transportent progressivement vers les pôles. Ils perdent, semble-t-il, leur forme régulière au moment du clivage et ont une tendance à se rapprocher les uns des autres à partir de ce moment. Ce phénomène est particulièrement net à la fin de la mitose. (Fig. 32 et 36. Pl. 4.)

La télophase est caractérisée par un tassement polaire souvent intense pendant lequel les chromosomes ont certainement des rapports très étroits.

Les phénomènes par lesquels les noyaux fils se reconstituent ne sont peut-être pas symétriquement inverses de ceux de la prophase. Il est extrêmement difficile, à cause du tassement polaire considérable qui n'a pas son correspondant au cours de la prophase, de dire si les chromosomes conservent une individualité intégrale. Nous avons (fig. 30. Pl. 4), observé des phénomènes de fragmentation qui semblent représenter la reconstitution du réseau chromatique dans chacun des noyaux fils. La réapparition du nucléole est également difficile à distinguer et le mécanisme par lequel elle s'opère, ne nous est pas connu. Il serait téméraire d'aller plus loin dans les affirmations, étant donné nous le répétons la petitesse du matériel et la grande condensation des substances chromatiques à ce stade. CHALAUD qui a étudié la télophase chez *Fossombronia pusilla*, a conclu qu'il était impossible d'affirmer la disparition ou la désintégration des éléments chromosomiques. D'après cet auteur le tassement polaire serait un phénomène superficiel. Il nous a paru plus intime dans les cellules spermatidogènes de *Marchantia polymorpha* chez lesquelles il est difficile de conclure entre l'hypothèse d'une

parfaite permanence, ou celle d'une désintégration complète des éléments chromosomiques.

B. LE CYTOPLASME DES CELLULES SPERMATIDOGÈNES.

Par cellules spermatidogènes nous entendons, on le sait, les cellules sexuelles depuis leur différenciation jusqu'à la dernière mitose donnant naissance aux *spermatides*.

Les cellules spermatidogènes ont une structure analogue à celle des cellules somatiques si l'on ne tient compte que de la présence des principaux éléments. Il existe uniquement des différences dans la répartition de ces éléments, et dans leur importance. Ainsi on l'a vu, le rapport nucléoplasmatique est augmenté. Inversement les cellules spermatidogènes sont moins vacuolaires que les cellules du thalle, et le vacuome est représenté par des vacuoles petites et sphériques paraissant être peu riches en métachromatine car le Regaud ne précipite pas d'endochromidies visibles après coloration à l'hématoxyline.

MORTE a nié l'existence de globules osmiophiles dans le protoplasme des éléments spermatiques qui, dit-il, « ne présente jamais, dans sa substance, de corps huileux concrétisés ». Selon lui, « les composés osmio-réducteurs que l'on y rencontre sont uniquement produits par les membranes séparant les membranes spermatidogènes ». Nous n'avons jamais été témoin d'un semblable processus sécrétoire de la part des membranes de l'hépatique. MORTE assimile les sphères osmiophiles en question à des huiles essentielles. Nous ne pouvons être aussi affirmatif en ce qui concerne leur composition exacte que personne n'a établie exactement semble-t-il jusqu'à présent, dans ces tissus de l'hépatique. Cependant il s'agit certainement d'éléments identiques à ceux un peu volumineux, en raison de la taille plus élevée des cellules, que l'on trouve dans tous les autres tissus de

l'hépatique, et assimilables à l'ergastome actif que l'on trouve partout.

Dans les jeunes anthéridies seulement composées d'une douzaine de cellules (fig. 19. Pl. 3), on constate déjà la présence de ces éléments dans le cytoplasme d'où ils tirent leur origine. Ils persistent à tous les stades de la spermatogénèse jusqu'à la spermatide qui peut en renfermer jusqu'à 5 ou 6.

Il est absolument hors de doute qu'il s'agit là de l'ergastome actif, tel que nous l'avons défini, et qu'il joue dans ces cellules sexuelles le même rôle que partout ailleurs. Bien qu'une partie de cet ergastome soit vraisemblablement éliminée dans la vésicule cytoplasmique du spermatozoïde qui se détache avant la fécondation, il n'est pas douteux que l'ergastome servant de système de réserve, n'ait contribué activement à combler une partie des besoins d'énergie et de substance que manifestent les cellules sexuelles en maturation.

Les plastes sont visibles sur le vivant dans les plus jeunes anthéridies composées d'une dizaine de cellules seulement. L'observation quoique difficile, en raison de la mise au point profonde qu'il faut opérer pour regarder à travers une assise superficielle fortement chargée en chlorophylle, permet néanmoins avec un peu d'attention, de reconnaître l'existence de 3 à 5 corps plus réfringents que le cytoplasme, de forme ovale ou aplatie, selon qu'on les voit de face ou par la tranche disposés autour du noyau. Ces observations sur le frais, faites après nos recherches sur matériel fixé, ont en quelque sorte confirmé notre point de vue.

Dans certains cas extrêmement favorables les plastes des cellules spermatidogènes sont visibles, après une simple fixation au Bouin, ce qui indique bien qu'il ne s'agit pas d'éléments du chondriome. Ils sont certes quelque peu endommagés.

La figure n° 7, pl. V du mémoire de J. MOTTE représente une jeune anthéridie de *Marchantia* fixée au liquide de Re-

gaud. On y distingue 6 noyaux, ce qui nous fait penser qu'au stade observé par l'auteur, cet organe comportait au moins une douzaine de cellules. On aperçoit de gros corps ovoïdes ou fusiformes qui représentent incontestablement des plastes et des corpuscules plus petits sous forme de granules ou de petits bâtonnets représentant des chondriosomes ou cyto-



Fig. 16. — *Marchantia polymorpha*. — Cellules spermatidogènes. Regaud, Hématoxyline. Plastes en division.

somes. Il ne semble pas que la confusion puisse être faite entre ces deux catégories d'éléments. C'est bien ce que nous avons vu nous-même dans des anthéridies de même âge (fig. 17), mais dans nos préparations fixées cependant par la même technique, les chondriosomes sont moins nombreux et moins nets. De façon générale, il ne nous a pas paru que, chez *Marchantia*, le chondriome fut aussi développé que Mottier et Motte, l'ont vu.

Les pseudo-chondriomites allongés de MOTTE représentent des stades de division des plastes ; l'existence du chon-

driome ou du cytome, que l'on emploie l'un ou l'autre terme n'est pas douteuse, mais celle du plastidome ne l'est pas moins. C'est pourquoi une vulgaire fixation au liquide de Bouin (fig. 17, 7 et 8), nous a montré, d'une façon incontestable, des éléments plus ou moins allongés et d'autres sphériques représentant les plastes. MOTTE pense que les « bâton-

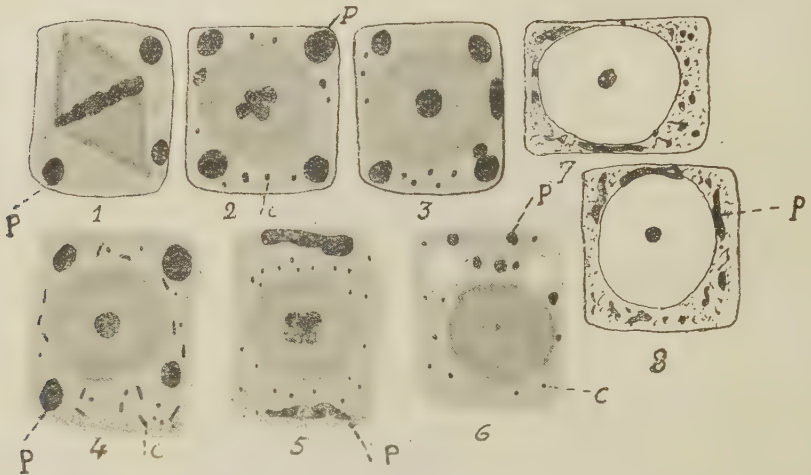


Fig. 17 — Cellules spermatogènes de *Marchantia polymorpha*.
Coloration Hématoxyline.
1, 2, 3, Picro-Formol pur.
4, 5, Regaud.
6, Formol. Acétate d'Urane.
7 et 8, Bouin.
P, Plastes; C, Cytosomes.

nets arqués disposés à la surface de certains noyaux » dérivent des chloroplastes et représentent une transformation du plastidome en chondriomites filamenteux. Ces bâtonnets dérivent, en effet, sans nul doute des chloroplastes, mais ne sont que de simples stades de division. Les deux chloroplastes, avant de se séparer, demeurant assez longtemps réunis par un fin trabécule, c'est ce qui explique les aspects filamenteux que l'on rencontre parfois.

En ce qui concerne les cytosomes, ces grains mitochondriaux, affectant assez souvent une disposition en chapelet,

on peut affirmer qu'ils sont des éléments également autonomes et sans rapport avec le plastidome ; ce ne sont pas des éléments du plastidome désagrégué. Les éléments les plus réguliers (mitosomes) sont sans doute permanents, et d'autres peuvent correspondre tout simplement à des produits du métabolisme, comme nous l'avons remarqué plus haut à propos de certains tissus.

Nous reprochons à MOTTE de n'avoir donné sur un sujet aussi capital que celui d'une pseudo transformation du plastidome en chondriome, que des précisions insuffisantes. Le nombre des figures est de 4. Ce n'est pas assez pour nous convaincre, d'autant plus que les stades de dégradation ne sont pas nettement indiqués. L'auteur ne justifie pas suffisamment sa théorie, à notre avis, par la description des nombreux cas intermédiaires que l'on eût souhaité voir représenter.

Peu après la différenciation des tissus de la lignée spermatique, on ne retrouverait plus, d'après MOTTE, « aucun chloroplaste différencié (Pl. V, fig. 8) ». Ce « peu après leur différenciation », ne possède pas une grande netteté chronologique, mais nous pensons pouvoir contredire cette affirmation par l'observation d'anthéridies de *Marchantia* composées d'une douzaine de cellules d'une part (fig. 3. Pl. 6) et par celle d'anthéridies plus âgées composées de 30 à 100 cellules possédant toutes des plastes nets. Toutes les fixations en permettent la mise en évidence. Le Flemming, lui-même, qui donne les plus mauvais résultats en matière de plastidome, montre nettement (fig. 19, Pl. 3) qu'il existe des plastes typiques dans les jeunes anthéridies composées d'une douzaine de cellules.

Les fixations au *Picro Formol* pur, au *Regaud*, au *Formol*, au *Formol* acétate d'Urane, indiquent très nettement la persistance des plastes jusqu'aux derniers stades de la spermatogénèse. Parfois on peut dans ces plastes distinguer une structure réticulée analogue à celle des chloroplastes des autres tissus ordinaires du gamétophyte.

Ces plastes conservés par ces fixateurs sont colorables par l'hématoxyline ou la fuchsine acide et le vert lumière (fig. 11 et 12. Pl. 3) (fig. 16 et 17) (Fig. 3. Pl. 6). Jusqu'à quel moment les plastes des tissus anthéridiens demeurent-ils fonctionnels ? Nous avons constaté dans certaines anthéridies, composées d'une trentaine de cellules, que les plastes étaient encore légèrement verts ; leur décoloration se fait par la suite, car ces cellules mènent une vie hétérotrophe.

Mais cette absence de chlorophylle n'empêche pas les plastes de sécréter de l'amidon. L'amidon apparaît à des instants très variables dans les cellules spermatidogènes. Il semble toutefois, qu'après leur décoloration, les plastes demeurent un certain temps sans activité puis ils se mettent, vers la fin de l'évolution du tissu spermatogène, à fabriquer de l'amidon. Chez *Fegatella* l'activité des plastes paraît, après s'être suspendue, reprendre assez tôt, et en effet on trouve de l'amidon dans les plastes d'anthéridies encore éloignées de la maturité.

Ces cellules cubiques (fig. 16. Pl. 3) renferment plusieurs grains d'amidon que le traitement par l'iode révèle en les colorant en rouge brique. Chez *Marchantia polymorpha*, malgré tous nos efforts, nous n'avons pas pu déceler la présence d'amidon dans les cellules cubiques. L'amidon ne réapparaît dans les plastes qu'au moment de la dernière mitose.

Nous verrons plus loin que l'amidon se retrouve également jusque dans la spermatide.

En un mot, d'après nous, le plastidome est, dans les cellules sexuelles mâles des hépatiques, absolument distinctes du chondriome. Nos travaux viennent à l'appui des observations de P. A. DANGEARD qui avait indiqué la permanence du plastidome chez *Marchantia polymorpha*, aussi bien dans les cellules spermatidogènes, que dans l'œuf lui-même.

La théorie du chondriome homogène de MOTTE ne repose sur aucun fait certain. Nous n'avons jamais constaté de ré-

gression du plastidome dans les anthéridies de *Marchantia polymorpha*, pas plus que dans les différents archeosporium qu'il nous a été donné d'observer sur le vivant. Chez *Anthoceros laevis* nous noterons que nous avons trouvé dans les plus jeunes cellules mères, des chromatophores absolument typiques. Il en est de même pour *Pellia epiphylla*. Ces observations feront d'ailleurs l'objet de notes ultérieures de notre part.

En ce qui concerne les spores, il n'y a jamais de doute possible, pensons-nous, à cet égard et l'on peut toujours suivre l'évolution d'un plastidome absolument autonome.

DEUXIÈME PARTIE

La dernière mitose, la formation des spermatides et la maturation des spermatozoïdes.

LA DERNIÈRE MITOSE ET LA QUESTION DES CENTROSOMES.

Au moment de la dernière mitose, la cellule sexuelle contient encore tous les éléments normaux, c'est-à-dire, outre un noyau nucléolé, des vacuoles, des plastes, des cytosomes et un ergastome actif représenté par de fines gouttelettes osmiophiles.

On sait que la spermatogénèse des Hépatiques, à l'inverse de ce qui se passe chez les animaux, se fait sans réduction chromatique. La dernière mitose ressemblerait à toutes les autres mitoses qui l'ont précédée, si à ce moment n'intervenait un appareil spécial constitué par deux centrosomes.

A quel instant apparaissent ces centrosomes et d'où proviennent-ils, il est difficile de le dire exactement.

L'extrême complexité du vocabulaire qui se rapporte aux questions de spermatogénèse, est à la fois un bien et un mal. Certes, il est parfois malaisé de s'y reconnaître au milieu des terminologies différentes employées par les auteurs, mais

certains termes (l'histoire du pseudo-appareil de GOLGI, du terme « Mitochondrie » le montre) ont suscité, autour d'eux, des polémiques non sans intérêt. Ces termes ont contribué, malgré l'obscurité apparente dont la question s'entourait momentanément, à faire avancer par la suite nos connaissances, en permettant l'organisation, comme autour d'autant de centres de cristallisation, de phénomènes jusqu'alors rebelles à toute théorie, c'est-à-dire à toute classification. « La puissance d'un mot suffit parfois à déterminer un mouvement d'opinion ainsi qu'une direction nouvelle dans les recherches d'histoire naturelle. » (1)

Ainsi le terme de « Blépharoplaste » a fait fortune en cytologie végétale et depuis les travaux initiaux de HIRASE [73] sur *Ginkgo* et de WEBER [149] sur *Zamia*, on a rencontré des centrosomes un peu partout, dans le règne végétal où ils paraissent présider aux mouvements, dans les cellules d'organisme inférieurs normalement mobiles, et dans les cellules sexuelles de végétaux déjà plus élevés en organisation, chez qui la mobilité est devenue en quelque sorte accidentelle.

P.-A. DANGEARD [30] dans son étude déjà ancienne sur la structure cellulaire, a fait de la question du blépharoplaste et de ses rapports avec l'appareil centrosomien, un historique aussi complet que le permettait l'état de la question en 1902. Il faut avouer qu'en 1930 en consultant les traités de SHARP [138] et de WILSON [151] il ne nous a pas paru que la question s'était très sensiblement éclaircie. De nombreux auteurs ont, en effet, combattu les théories faisant jouer au centrosome un rôle actif dans la formation du blépharoplaste et ont même nié l'existence de ce dernier appareil. C'est le cas de J. MOTTE [108], par exemple.

SCHOTTLANDER [133] trouva des centrosomes chez *Marchantia polymorpha*, mais ce résultat fut contesté par STRASBURGER [140] qui réussit, par ailleurs, à établir plusieurs

1. (P. A. DANGEARD).

zones dans le corps du spermatozoïde au moyen d'une double coloration : vert d'iode-fuchsine. En outre, chez *Pellia*, il trouva à côté du noyau un corps qu'il nomma « Cytoplasma-hocker ». IKENO [76], qui ne donne aucun renseignement sur les inclusions cytoplasmiques dans les jeunes cellules spermatogènes, trouve dans celles-ci au moment de la dernière mitose de volumineux centrosomes. On se demande si IKENO [76] n'a pas eu, sous les yeux, des éléments du plasmidome, car la grosseur de ces centrosomes nous semble tout à fait suspecte. Si ces volumineux centrosomes existent réellement dans les jeunes cellules, il est absolument impossible qu'ils passent inaperçus à un chercheur travaillant avec des techniques normales.

Les sphères centrosomiques vues par IKENO [76] peuvent très bien correspondre aux capuchons polaires, sphères sidérophiles et autres amas chromatiques vus aux extrémités des fuseaux par BLACK [10], WOODBURN [152], MOTTE [108] nous-même et tant d'autres auteurs.

Chez *Marchantia* et *Fegatella*, MIYAKE [106 bis] ne trouva pas de centrosomes, à proprement parler, à aucun moment et pas même à la dernière mitose où il remarqua des corps polaires dans lesquels il se refusait à voir autre chose que des blépharoplastes. BOLLETER (11), au contraire, trouva partout des centrosomes chez *Fegatella* ainsi qu'un « Verbindungstück » en partie dérivé du « Nebenkörper » et se développant entre le centrosome et le noyau. HUMPHREY [74] chez *Fossombronia* ne remarqua pas de centrosomes mais des blépharoplastes, d'origine cytoplasmique, à la dernière mitose.

LEWIS [91] au contraire, chez *Riccia natans*, nota l'existence de « Centrosomes Like-Bodies », tandis qu'ESCOYEZ [51] reprenant l'étude de *Marchantia*, émit des conclusions similaires à celles de MIYAKE [106 bis] ne regardant pas le centrosome apparaissant à la dernière mitose, comme un centrosome et lui attribuant la valeur d'un « corps fonctionnant comme blépharoplaste ». On nous excusera de revenir sur

un historique déjà souvent fait, qu'il était nécessaire de reprendre brièvement sous une forme condensée. On voit que cet historique est plein de subtilités, au fond souvent seulement verbales, en ce qui concerne la nature des corpuscules polaires qui apparaissent à la dernière mitose. Les uns, comme IKENO [76 et 78] et SHARP [135-136-137], ont vu dans les centrosomes un système permanent se transmettant de mitoses en mitoses, jusqu'à la dernière où ils donnent le blépharoplaste appareil locomoteur. Les autres, comme MIKAYE et ESCOYEZ, ont vraisemblablement vu en la dernière mitose de vrais centrosomes qu'ils se refusent d'appeler par leur nom, on ne sait pourquoi. Certains, comme CHALAUD, [24] ne nient pas l'existence d'un véritable centrosome.

D'autre part, il existe une école ayant MOTTIER [109] pour chef et comprenant WOODBURN [152], ESCOYEZ [51], BLACK [10], etc., estimant que le pseudo centrosome de la dernière mitose naît *de novo* dans le cytoplasme. Voici ce que dit WOODBURN (1911) à ce sujet : « These considerations tend to confirm the view expressed by MOTTIER (1904), that the fundamental substance known as kinoplasm possesses genetic continuity, and that the blepharoplast represents *individualized parts of the Kinoplasm arising de novo in certain spermatogenous cells* ».

Enfin, MORTE en défendant une conception excessive nie purement et simplement l'existence de corps centraux chez les *Muscinées* et les *Hépatiques* ainsi que celle du blépharoplaste.

Il est inutile de revenir sur la description de la dernière mitose proprement dite, nous ne nous attacherons qu'aux phénomènes spéciaux qui ont trait à l'apparition et à la transformation des centrosomes.

Il est difficile de suivre avant la dernière mitose, la sortie des centrosomes hors du noyau. Il nous a semblé assister dans certains cas à ce phénomène (fig. 33 pl. 4), mais ceci sous toutes réserves, étant donné la petitesse du matériel

et la difficulté de distinguer les deux centrosomes dans ces noyaux où il existe d'autres granules sidérophiles peu avant la prophase.

Nous avons également souvent observé, avant le commencement de la division, deux granules situés de part et d'autre du noyau dans le cytoplasme. Il se peut que les centrosomes soient présents dès ce stade.

Quoi qu'il en soit, il existe chez *Marchantia polymorpha*, et quelle que soit la fixation utilisée, des centrosomes extrêmement nets dès la fin de la prophase, où ils occupent les angles extrêmes de la cellule. A ce stade, on peut voir en effet (Pl. IV, F. 35) l'organisation de la plaque équatoriale ; une masse d'origine spirématique composée de chromosomes encore légèrement coalescents et assez trapus occupe le centre de la cellule, et il est évidemment impossible de voir simultanément sur le même plan les deux centrosomes et la plaque équatoriale vue de face d'un même fuseau. La masse chromatique de forme globuleuse correspond bien à l'organisation de la plaque équatoriale.

Pendant la métaphase (Fig. 21-23-27-28, Pl. IV), on retrouve constamment à chacun des pôles du fuseau un granule punctiforme bien net, ne pouvant, en aucun cas, être assimilé à « un capuchon chondrioplastique quelconque », comme l'a soutenu J. MOTTE. Cet aspect se retrouve après n'importe quelle méthode de fixation : Regaud, Picro-Formol, pur Bouin, Flemming, Fixateurs à base de Sublimé. [Fig. 18.)

Nous avons signalé à propos des mitoses de prématuration, qu'on distinguait parfois des sphérules chromatiques présentes sur le fuseau ; ces corps se retrouvent, lors de la dernière mitose. De nombreux auteurs, pensions-nous, les ont vus ; on s'en rend compte si l'on examine avec attention leurs descriptions et leurs dessins.

Ce qu'IKENO [76] a décrit, sous le nom de centrosomes,

représente tout simplement ces corps sidérophiles qui peuvent masquer ou englober plus ou moins les véritables centrosomes.

ESCOYEZ [51] les a assimilés aux « nebenkörper », et nous verrons plus loin ce qu'il faut penser de cette interprétation.

WOODBURN [152 à 155] et BLACK [10] les ont également

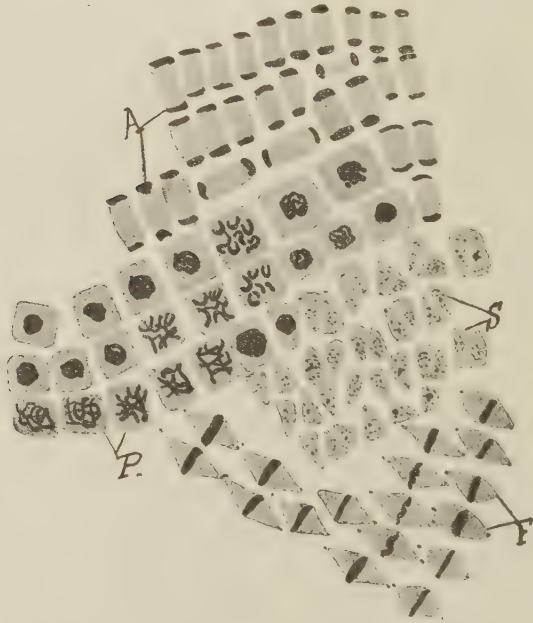


Fig. 18. — *Marchantia polymorpha*. — Secteur antheridien en mitose Picro-Formol pur, Hématoxyline.
P, plaques équatoriales vues de face; F, fuseaux achromatiques de dernière mitose avec centrosomes aux extrémités; A, Telophases; S, Spermatides.

observés sans parler de vrais centrosomes qu'ils n'ont vraisemblablement pas vus.

Que représentent ces masses sidérophiles ? A-t-on affaire à des éléments du cytoplasme qui s'accolent au fuseau et participent à la dernière division ? On bien sont-ce là les nucléoles ?

Ces sphères (Fig. 22-25-26-27-28, Pl. IV) juxta-fusoriales,

comme on pourrait les nommer, sont d'abord localisées, semble-t-il, au niveau et de part et d'autre de la plaque équatoriale. Elles émigrent ensuite vers les extrémités du fuseau et se rapprochent des centrosomes. Les figures citées se rapportent à des préparations fixées par le Picro-Formol pur. Ce fixateur conserve admirablement bien le plastidome. Il est vrai que la chromatine nucléaire l'est aussi parfaitement, mais les sphères parafusoriales correspondent par leurs dimensions, aux plastes. Et d'ailleurs, on ne peut songer sérieusement à les assimiler aux fragments d'un nucléole qui se serait divisé en deux et aurait persisté intact à travers toutes les vicissitudes de la caryocinèse. Nous avons indiqué plus haut à propos des mitoses de prématuration que le nucléole paraissait disparaître au début de l'anaphase. La cellule qui va donner les deux spermatides, possède un plastidome très net, et la présence de sphères juxta-fusoriales durant la dernière mitose représente simplement, selon nous, la transmission du plastidome aux spermatides. En effet, ces dernières étant elles-mêmes pourvues de cet appareil, il faut bien qu'à un moment quelconque on assiste à leur transmission.

Mais revenons aux centrosomes, eux-mêmes. Nous les retrouvons à l'anaphase et à la télophase (Fig. 24, 36. pl. IV) et ainsi ils auront été présents pendant toute la mitose. Après la télophase ces centrosomes ne paraissent pas s'incorporer à chacun des noyaux fils dont ils dépendent, mais demeurer dans le cytoplasme où ils vont présider, sans doute, à l'apparition de l'appareil locomoteur constitué par les cils et le blépharoplaste.

Ainsi la présence simultanée dans nos figures des plastes et des centrosomes, aux extrémités fusoriales, prouve bien l'autonomie et l'existence réelle des structures décrites chez les Hépatiques par de nombreux auteurs sous le nom générique de centrosomes.

APPARITION DU BLÉPHAROPLASTE.

Après la dernière télophase, la substance chromatique du noyau, qui était localisée dans les chromosomes, se disperse plus ou moins, par une abondante fragmentation, en un grand nombre de granules anastomosés par un système réticulé constituant une sorte de réseau chromatique. Il n'y a pas, comme MOTTE l'a prétendu, une simplification de structure nucléaire. D'après cet auteur, la diminution de taille de la cellule, coïnciderait avec une réduction de l'architecture nucléaire. Cette hypothèse ne se vérifie certainement pas dans les cas de *Marchantia polymorpha* et de *Fegatella conica*, dont les spermatides possèdent un noyau normal granuleux et souvent à structure réticulée, voisine de celle des noyaux des précédentes générations (fig. 5 et 10, Pl. V). Le noyau de la spermatide demeure, après la dernière mitose, dans un état intermédiaire entre le repos et l'activité cinétique. Cette abondance de matériel chromatique dans une si petite cellule, n'est pas faite pour faciliter l'interprétation, car parmi le « fouillis » des granules sidérophiles, il est parfois difficile de reconnaître ce qui appartient en propre au noyau et ce qui se trouve à la périphérie, qui n'est pas toujours très exactement délimitée.

Nous ne comparerons pas nos résultats avec ceux de MOTTE qui n'a fourni que peu de données sur la chronologie exacte des phénomènes ultimes de la spermatogénèse, mais avec ceux de CHALAUD. La spermatide de *Fossombronia pusilla* est homogène d'après cet auteur mais le blépharoplaste apparaîtrait rapidement.

Bien qu'admettant l'existence du système centrosomien et sa parenté avec l'appareil locomoteur, CHALAUD n'a pas indiqué l'évolution des centrosomes pendant la dernière mitose. Ils n'apparaîtraient pas au cours de celle-ci, mais seulement dans le noyau de la spermatide ; le blépharoplaste

sortirait du noyau par un petit bec et viendrait se placer dans un angle de la cellule.

Nous ferons remarquer que les figures n^{os} 10, 11, 12 et 15, Pl. 5 de G. CHALAUD ressemblent à celles qu'IKENO donna pour *Marchantia polymorpha*. On verra que nous interprétons toutes les extrusions de chromatine signalées par les auteurs, comme des stades divers de la production d'un appareil moyen opérant la jonction entre l'appareil locomoteur et le noyau. Le blépharoplaste apparaîtrait beaucoup plus tôt. Les centrosomes, dès le moment où ils sortent vraisemblablement du noyau dans la cellule de l'avant dernière génération, persistent dans le cytoplasme et ne sont plus, du moins en ce qui concerne *Marchantia*, en relation avec le noyau.

Quand et comment, en particulier, le blépharoplaste apparaît-il ? Quelle que soit la fixation que nous ayons utilisée, il nous a été impossible d'établir avec certitude si les centrosomes dont nous avons constaté toujours la présence au moment de la télophase dans deux angles opposés de la cellule, correspondaient exactement à chacun des blépharoplastes perceptibles dans un des angles de chaque spermatide quand le désordre chromatique successif à la dernière mitose s'était un peu calmé. Certes, il existe dans le cytoplasme, à un moment donné, un granule punctiforme ressemblant au centrosome, mais la filiation avec ce dernier est-elle réelle ?

On peut, de la grande complexité des images, dégager cependant les conclusions suivantes :

1^o Parmi les nombreux granules présents dans la spermatide dont le noyau est redevenu achromatique, il s'en trouve un qui représente le nucléole. Ce nucléole persiste fort tard, on le verra, durant la spermatogénèse. Ces faits sont en contradiction avec les assertions de MOTTE, relatant la présence d'un noyau homogène dans les spermatides. MOTTE a soutenu la théorie du caryosome n'admettant pas, en effet, l'existence d'un nucléole défini chez les Muscinées et les Hépatiques. Ce caryosome diminuerait de volume jusqu'à

complète disparition. Le rapport nucléolo-nucléaire, dit MOTTE, « *tend vers zéro* ». Puis brusquement selon, le même auteur, ce « nucléole nucléinien résumant toutes la substance nucléaire », augmenterait brusquement de volume jusqu'à constituer le noyau de la spermatide plus âgée. Il y a là semble-t-il une contradiction, qui ne résulte peut-être pas de l'emploi des termes inadéquats pour décrire des phénomènes chromatiques normaux. Certes, le noyau paraît se modifier considérablement au cours des phases ultimes de la maturation du spermatozoïde, par jonction plus ou moins étroite avec certains éléments du cytoplasme et par une augmentation insolite de chromaticité qui paraît générale, mais il n'est pas impossible que sa structure ne soit pas sensiblement modifiée, étant donné que jusqu'au stade de formation du croissant chromatique, il est possible d'observer la persistance du nucléole.

Nous avons vu au cours des mitoses de prématuration, quel rôle important jouait le nucléole dans l'élaboration de ce spirème discontinu que nous avons observé ; mais ce rôle se bornait uniquement, à « rechromatiser » (qu'on nous permette cette expression barbare) la substance achromatique du réseau par une action trophique. C'est de la condensation du réseau achromatique aidée par le nucléole que résulte la formation des chromosomes et non de la seule fragmentation directe de ce nucléole.

2° Après la dernière télophase le centrosome demeure dans le cytoplasme ; il n'y a aucune impossibilité à ce qu'il constitue l'origine du blépharoplaste.

3° On ne voit jamais s'opérer un rassemblement de matériel chromatique dans un point de la spermatide pour donner naissance à ce granule toujours punctiforme et bien délimité qu'est, à l'origine, le petit blépharoplaste.

MOTTE a décrit ce dernier processus. Alors que plusieurs auteurs faisaient naître le blépharoplaste d'une différenciation d'ailleurs hypothétique à partir du *Kinoplasma*, MOTTE indique dans la spermatide la présence d'un chondriome

homogène, non différencié, réduit à un système de granules répartis dans le cytoplasme et donnant naissance à l'appareil locomoteur. Ceci est en contradiction avec tout ce qu'on sait aujourd'hui de l'apparition du système locomoteur dans les gamètes des métazoaires ou chez les flagellés et les végétaux inférieurs (Voir le travail de GRASSÉ [64].)

D'après MOTTE, les granules mitochondriaux se réuniraient dans un coin de la spermatide où ils seraient naturellement refoulés par le noyau, et leur fusion engendrerait l'appareil mitochondrial élaborateur d'amidon, ou blépharoplaste des auteurs.

Nos observations nous ont permis d'établir : 1° qu'il existait un blépharoplaste autonome ; 2° qu'il n'y avait aucun rapport entre cet organe et la production d'amidon dévolue à un plaste normal, dont nous allons parler plus loin. Le blépharoplaste n'a aucune analogie avec un corps d'origine mitochondriale. Il débute, avons-nous dit, par un minuscule primordium visible après n'importe quelle fixation, fut-ce le Bouin et même très chargé en acide acétique.

LA JONCTION DU NOYAU ET DU BLÉPHAROPLASTE.

Nous touchons maintenant à un point particulièrement délicat ; c'est-à-dire à la description du mécanisme par lequel la spermatide, cellule triangulaire ayant encore une structure normale, donne naissance au filament spermal où presque aucune différenciation n'est plus perceptible quand la maturité est complète.

L'histoire des éléments accessoires contenus dans le cytoplasme de la spermatide et l'explication du rôle qu'ils y jouent, sont également d'une très grande complexité. La théorie des extrusions de chromatine et l'introduction de termes nouveaux n'est pas faite pour faciliter le travail. On ne peut, en effet, être absolument sûr que certains éléments découverts par les auteurs et nommés « limosphère et percono-

some » correspondent à des systèmes constants et autonomes.

E. B. WILSON [151] dans son traité sur « la cellule dans le développement et l'hérédité » a assimilé la limosphère de M. WILSON [150] et ALLEN (1) à l'acroblaste et à l'appareil de Golgi (Voir fig. 19.)

Etant donné ce qu'on sait aujourd'hui de l'appareil de Golgi, qui serait non plus un système permanent et autonome, mais un complexe du vacuome, du chondriome, et des lipoides sécrétés par le cytoplasme, on ne voit pas quel est le profit à tirer de cette assimilation.

Nous n'avons obtenu chez *Marchantia polymorpha* que



Fig. 19. — Reproduction de spermatides d'après Wilson.
1 (fig. 24); 2 (fig. 26); 3 (fig. 28).

des résultats extrêmement imprécis et défectueux par la méthode de CAJAL. Nous n'avons pas constaté la présence d'appareil réticulaire, mais l'imprégnation de petits globules disséminés dans le cytoplasme et correspondant probablement aux huiles ou aux graisses de l'ergastome actif. D'ailleurs d'autres éléments, c'est-à-dire le plaste, le noyau lui-même en voie d'allongement, peuvent manifester de l'affinité pour l'argent. MORTE, bien qu'ayant signalé les grandes irrégularités dans les résultats, conclut chez *Mnium affine* à l'imprégnation du corps mitochondrial amylofère.

De nombreux auteurs, travaillant au moyen de techniques courantes, ont constaté l'apparition, à côté du noyau, de une ou plusieurs formations sphériques, linéaires, réticulées, etc., selon les opinions, naissant *de novo* ou provenant du nucléole par extrusion de chromatine. Ces éléments seraient destinés soit à disparaître (résorbés dans le cytoplasme, ou expulsés) soit à jouer un rôle plus ou moins actif dans la genèse du croissant chromatique.

TABLEAU II

TABLEAU II	
Constituants de la spermatide d'après les principaux auteurs	
Centrosome	Allen +
/ Centrosomique.....	Allen +
Mitochondriale	Allen +
Plastidomique	Allen +
Nucléaire, Cytoplasmique ou douteuse.....	Allen +
Vacuome.....	Allen +
Plastidome	Allen +
Chondriome ou Cytome.....	Allen +
Chondriome homogène.....	Allen +
Nebenkorper	Allen +
Limosphère.....	Allen +
Perenosome	Allen +
Ergastome actif.....	Allen +
Extrusion de chromatine.....	Allen +
Pièce intermédiaire.....	Allen +
Appareil de Golgi	Allen +

Pour ne pas nous engager dans un exposé interminable nécessitant la répétition d'une longue et fastidieuse bibliographie déjà connue, nous avons résumé, dans un tableau, les quelques résultats les plus essentiels qui touchent particulièrement à nos propres recherches. Ce tableau (tab. II) n'a pas la prétention d'être complet et présente des lacunes, il nous servira simplement à alléger l'exposé de nos propres observations sur les stades ultimes dont nous allons décrire les principaux phénomènes.

Le BOUIN fournit déjà des renseignements qui ne sont pas négligeables. La colorabilité générale du noyau de la spermatide diminue fortement tandis que le nucléole punctiforme demeure parfaitement visible.

Le blépharoplaste situé dans un angle de la cellule s'allonge peu à peu, en suivant la membrane de plus ou moins près, dans la direction du noyau. Sur le matériel frais on ne peut, à ce stade, distinguer absolument rien à l'intérieur de la spermatide, mais l'action de l'eau iodée révèle l'existence d'un corpuscule amyloïde (Fig. 13 et 15, pl. 3) déjà rencontré dans les spermatozoïdes d'Hépatiques par GUIGNARD [66], DANGEARD [37], MOTTE [108], CHALAUD [24]. Ce *corpuscule* est visible, dans certains cas, après la fixation au BOUIN et d'une façon permanente, après le Picro-Formol ou le Regaud ; il se colore en noir par l'hématoxyline, en rouge par la fuchsine acide (Fig. 5 et 6, 18, pl. III). Il est parfois possible de constater à l'intérieur de cette formation une structure réticulée analogue à celle des plastes. L'existence de ce plaste dans la spermatide ne peut être mise en doute et son origine et ses rapports avec les autres éléments du cytoplasme ne sont pas douteux.

C'est là le *nebenkorper* d'IKENO, d'ESCOYEZ, etc. Ce plaste n'apparaît jamais par la coalescence de plusieurs éléments séparés et n'est ni un corps mitochondrial, ni le blépharoplaste, formation autonome.

Où sont dans nos spermatides, les matériaux correspon-

dant à la limosphère (1) et au percnosome ? Ces éléments ne sont pas autonomes car les préparations osmiées révèlent l'existence d'une ou plusieurs sphères osmiophiles chez *Fegatella conica* et chez *Marchantia polymorpha*. Ces observations concordent avec celles de CHALAUD qui a trouvé des corps osmioréducteurs (qu'il nomme gouttelettes oléiformes) dans les spermatides de *Fossombronia pusilla*, et infirment celles de MORTE [108]. Les spermatides de *Marchantia* renferment également des vacuoles et ces dernières prennent une ampleur de plus en plus grande, au fur et à mesure de l'incorporation du noyau au cordon chromatique.

Il se produit une sorte d'autolyse cytoplasmique. Le protoplasme de la spermatide dont la forme évolue vers l'aplatissement en un disque se détruit peu à peu en contribuant sans doute plus ou moins par cession de matériaux à l'élaboration du filament spermial.

Les vacuoles se transforment en lacunes (fig. 20, 41-42, Pl. V) et finalement le corps cytoplasmique étant réduit à quelques fins trabécules disposés à l'intérieur du cercle spermial comme les rayons d'une roue, le déroulement devient possible par leur rupture.

Nous n'avons pas réussi, jusqu'à présent, à colorer vitalement le vacuome des tissus spermatogènes. CHALAUD [24 bis] a pu mettre en évidence des vacuoles par le rouge neutre dans les spermatides de *Cephalozia bicuspidata*.

Il est difficile, sinon impossible, de voir au cours du dernier acte de la transformation de la spermatide en spermatozoïde une transmission du vacuome. Peut être s'effectue-t-elle à notre insu sous forme de chromidies très denses confondues avec le reste des matériaux chromatiques. Mais ce n'est là qu'une simple hypothèse.

1. CHALAUD assimile également la Limosphère à ce qu'il nomme : gouttelette oléiforme, c'est-à-dire ergastome actif.

ALLONGEMENT DU NOYAU, JONCTION AVEC LE BLÉPHARO-
PLASTE PAR LA PIÈCE MOYENNE, DESTINÉE DU PLASTE
UNIQUE.

La jonction du noyau et du blépharoplaste résulte de plusieurs phénomènes connexes. 1° De l'allongement du blépharoplaste lui-même, qui à partir d'une tête plus grosse s'effile et s'allonge dans la direction du noyau ; 2° Par un étirement du noyau lui-même qui s'allonge vraisemblablement, sous l'action directrice du blépharoplaste dont le rôle directeur, à ce moment, plaide d'ailleurs en faveur de son origine centrosomique ; 3° Par l'intermédiaire d'une pièce moyenne dont l'origine est assez mystérieuse.

Il est malaisé de séparer le phénomène d'étirement nucléaire de celui de la production d'une pièce intermédiaire et ce sont ces deux processus conjugués qui ont été décrits par les auteurs sous le nom d'« extrusion de chromatine ». De quelle façon commence l'étirement du noyau ? Peut-être par la manifestation d'une structure interne particulière que nous avons parfois observée, après fixation au Bouin et qui relie, d'une façon plus ou moins complète, le nucléole à la région périphérique du noyau (fig. 14, Pl. V). Peu après ce stade (13-15-16-17-18), il est souvent malaisé, au moyen du même mode de fixation, de repérer la limite exacte du noyau et l'on aperçoit fréquemment un granule correspondant au plaste. L'examen des préparations après fixations au Formol, au Regaud, au Picro-Formol, au Formol-Urane (Fig. 23 à 35, Pl. V) permet d'affirmer qu'il se produit une expansion de la substance nucléaire vers l'extérieur, c'est-à-dire vers le cytoplasme.

Y a-t-il une réelle extrusion ? Il est difficile de le dire : l'étirement nucléaire commence en un point qui acquiert une autonomie relative et la valeur d'une pièce moyenne favorisant la jonction avec le blépharoplaste. L'étirement

nucléaire ne se produit pas en tout cas, n'importe comment et il semble bien que l'extrémité effilée du blépharoplaste vient s'insérer dans une sorte de bec ou de gaine que constitue la partie postérieure du noyau. (Fig. 7 et 43, Pl. V.)

MOTTE a rattaché, chez les Muscinées, l'extrusion de chromatine des auteurs (WILSON, WALKER [148], etc.) à l'évolution du chondriome. Cependant, l'étranglement du « caryosome » à un moment quelconque, ne peut-être absolument nié. MOTTE ne paraît pas avoir eu sous les yeux des préparations correspondant à ces stades, car l'existence d'une relation intime du blépharoplaste et du noyau, précédant la formation proprement dite du filament spermiel est évidente. Les faits sont absolument constants et ne sont pas dus aux fixateurs employés. Chez *Fegatella conica*, fixé au Bouin, nous avons obtenu les mêmes résultats que chez *Marchantia polymorpha* fixé au Regaud, Formol, Picro-Formol, etc. Il y a chez *Fegatella* un granule situé au contact ou près du noyau, différent du plaste et représentant la pièce moyenne (fig. 3, 4, 5, pl. V). C'est par son intermédiaire que la liaison avec le blépharoplaste s'effectue.

Le phénomène d'extrusion représente l'envoi d'un pont de chromatine à la rencontre de l'appareil locomoteur, et ne représente pas, comme l'ont soutenu certains auteurs (WALKER en particulier), la formation d'un nebenkorper qui n'est autre chose que le plaste.

Les phénomènes sont les mêmes, en somme, chez *Marchantia polymorpha*. Il s'établit une jonction ultérieure entre la partie antérieure du noyau et le plaste (fig. 7, 8, 9, 43, Pl. V). Ainsi, le plaste pourrait dans l'anthérozoïde mûr constituer une partie de l'extrémité postérieure de ce dernier. Nous disons une partie, car nous avons constaté qu'au cours de la maturation et de l'étirement du filament spermiel, le plaste d'abord sphérique s'allongeait parallèlement. Cet étirement serait incompréhensible si la totalité de l'amidon appartenait vraiment à la vésicule cytoplasmique et

était destinée à être expulsée. En traitant par l'iode les préparations de spermatozoïdes mûrs et en prenant certaines précautions pour obtenir des montages normaux en baume (car l'observation en milieu aqueux est illusoire à ce stade où la visibilité des éléments est déplorable par manque de différences de réfringence), on peut très souvent remarquer l'existence d'une bandelette de réaction amyloïde incorporée au filament spermial ou plaquée étroitement à sa surface.

A partir de l'instant où la jonction entre le noyau et le blépharoplaste est faite, il devient difficile de suivre les phénomènes.

Un croissant chromatique s'est donc constitué et ce dernier va s'étirer, de plus en plus, en perdant de son épaisseur. Le croissant chromatique conserve assez longtemps une structure réticulée et l'on distingue, dans certains cas (fig. 20, Pl. V) plusieurs granules plus chromatiques pouvant vraisemblablement correspondre au nucléole et au centrosome qui pourrait ainsi présider à la formation de l'appareil locomoteur, sans perdre absolument son individualité (fig. 8, Pl. V).

Il n'est pas douteux qu'il y ait des relations entre le croissant chromatique et le cytoplasme. Il se produit certainement entre eux des échanges de substance (fig. 21-41-42, Pl. V) ; le premier se développant partiellement aux dépens du second, un peu à la manière de l'embryon plaqué autour du vitellus, pour employer une comparaison. Le croissant chromatique n'est pas, en effet, toujours très bien délimité dans sa portion concave dirigée vers l'intérieur de la cellule et l'on comprend ainsi la théorie de WOODBURN qui admettait la possibilité d'une certaine participation du cytoplasme à la constitution du filament spermial, hypothèse que MOTTE n'a pas entièrement rejetée de ses conclusions.

Cela expliquerait que l'on trouve parfois, à l'intérieur du cerceau spermatique en voie de maturation, de gros granules chromatiques résultant de la cytolyse. Certes, la majorité du cytoplasme est destinée à être résorbée ou à faire partie.

de la vésicule postérieure, mais une certaine quantité peut coopérer à la formation du spermatozoïde, car on voit parfois s'accoler quelques granules au corps du filament chromatique comme pour une incorporation latérale.

Nous n'avons pas eu de préparations nous montrant clairement l'évolution complète des deux flagelles bien que ceux-ci fussent très nets. Il est certain qu'ils apparaissent très tôt, insérés sur le blépharoplaste, chez la spermatide à l'état de cellule triangulaire et dont le noyau intact n'a pas encore commencé à s'allonger. L'apparition des flagelles précède chez *Marchantia* celle de la pièce intermédiaire.

Notre étude du spermatozoïde s'arrête au point où ce dernier paraît adulte c'est-à-dire, lorsque la vésicule cytoplasmique s'étant enfin détachée, le déroulement du filament spermial est complet.

D'après les travaux de STEIL, RICKETT, SHOWALTER (cités d'après G. CHALAUD), les états généralement dessinés et décrits par les auteurs, comme des stades adultes, seraient encore loin de la maturité. Le filament spermial continuerait à s'allonger considérablement après son déroulement et il y aurait une évolution des spermatozoïdes ultérieure à la débiscence des anthéridies.

Nous ne pouvons apporter aucune contribution personnelle touchant ce point. N'ayant jamais étudié les spermatozoïdes de *Marchantia* au moyen des techniques nouvelles indiquées par CHALAUD.

Il en est de même en ce qui concerne l'insertion des flagelles. Ces derniers auraient, non pas un point d'insertion commun sur le cordon blépharoplastique, mais deux points d'insertion séparés et situés à une distance parfois relativement grande. CHALAUD a signalé cette dualité des points d'insertion chez *Sphaerocarpus terrestris*, *Fossombronina pusilla*, *Cephalozia bicuspidata*, *Lophocolea heterophylla*.

Nous n'avons rien constaté de semblable chez *Marchantia polymorpha* et *Fegatella conica*. De nouvelles recherches

peuvent confirmer la théorie de CHALAUD, mais il se peut aussi que l'insertion géminée avec un flagelle moteur et un flagelle directeur ne soit pas un phénomène absolument général chez les Hépatiques.

Quelle est, en définitive, la structure réelle du spermatozoïde mûr ? Certes c'est une structure réduite par rapport à celle du spermatozoïde. Peut-être, faut-il voir d'ailleurs, dans cette seconde évolution qui fait du spermatozoïde une entité si différente de la spermatide, un reflet ancestral d'une évolution de la sexualité avec une adaptation plus étroite et plus exclusive à un rôle fécondateur immédiat du gamète mâle qui pouvait primitivement mener, plus ou moins, comme certains zoospores, une existence autonome ?

En effet, nous avons vu que le vacuome n'était pas compris dans les derniers stades de l'évolution, que la destinée du chondriome était incertaine. Seul le plaste nous a paru persister à l'arrière du corps du filament spermial. La vésicule entraîne avec elle les dernières portions du cytoplasme ainsi que l'ergastome. Est-ce à dire que le spermatozoïde des Hépatiques est seulement un noyau ? Nous attirons l'attention sur la présence d'une structure dans le spermatozoïde mûr de *Marchantia*, visible sous la forme d'une ou de plusieurs lacunes chromophobes. (Fig. 22 et 40, Pl. V.) Ces lacunes sont-elles assimilables aux lacunes chromophobes du croissant chromatique en constitution ? Sont elles les derniers indices d'une structure nucléaire ou l'indication d'une enclave d'origine cytoplasmique (plaste) ? Nous ne savons et signalons seulement cette structure particulière.

Parlerons-nous du corps basal perceptible à la partie antérieure, quoique difficilement et grâce seulement à une longue habitude et à l'examen d'une quantité de préparations ? CHALAUD en a nié la réalité. Il s'agissait seulement pour lui d'un empâtement de colorant réunissant l'extrémité antérieure des flagelles et le blépharoplaste.

Nous n'adhérons pas à cette opinion. Au stade auquel nous

faisons allusion, même à supposer qu'on prouve ultérieurement que ce n'est pas celui de l'absolue maturité, nous inclinons fortement à voir un bouton céphalique pointu à son extrémité et représentant probablement l'appareil centrosomien.

Pour terminer nous citerons l'ingénieuse hypothèse à laquelle adhère CHALAUD en ce qui concerne la structure du filament spermial. Ce dernier serait simplement constitué par les chromosomes mis bout à bout, constituant en quelque sorte un spirème continu.

MOTTE dans les conclusions partielles de son travail, relatives aux Muscinées et dans les conclusions générales s'est occupé du problème de l'analogie des spermatogénèses animale et végétale.

Ces rapprochements sont intéressants et il est regrettable que ce soient toujours, en quelque sorte, les Botanistes qui fassent le premier pas dans ce sens. On trouve, en effet rarement dans les mémoires ayant trait à la spermatogénèse animale, des allusions aux phénomènes connexes dont les végétaux sont le siège.

Le travail de P. GRASSE [64] sur les Flagellés parasites renferme cependant des vues intéressantes sur ce sujet.

P. A. DANGEARD [30] tentait cependant déjà en 1902, un essai de synthèse dans son « étude sur la structure de la cellule », comparant les spermatozoïdes animaux et végétaux avec les organismes inférieurs mobiles. Il insistait, d'autre part, sur l'identité de structure de certains organismes inférieurs, comme le *Polytoma uvella* par exemple, avec la spermatide des végétaux. L'appareil locomoteur du *Polytoma uvella* fut d'abord étudié par P. A. DANGEARD [29-30] puis par ENTZ [50] qui fournit des indications complémentaires. On trouve un appareil locomoteur complet constitué par un blépharoplaste ou basoplaste (dans la terminologie utilisée par ENTZ), où s'insèrent les flagelles. Le blépharoplaste est relié au noyau par l'intermédiaire d'un rhizo-

plaste, ou rhizonéma et d'un condyle (anchoring granule ou karyoplast). Enfin, une structure nommée centronéma mettrait même en relation le condyle et le nucléole. Il faut ajouter à cela que le *Polytoma uvella* possède une zone amylofère correspondant peut-être phylogénétiquement à un chromatophore (1). Au cours de l'étude de la spermatogénèse de *Marchantia* ou de *Fegatella*, nous avons rencontré un grand nombre de faits et d'aspects qui nous conduisent à penser, qu'au cours des processus de maturation des spermatides, on retrouve une sorte de résumé, dans le temps, de cette structure commune à un grand nombre d'organismes inférieurs, algues mobiles ou flagellés.

La constitution de l'appareil locomoteur de la spermatide de *Marchantia* (car c'est dans la spermatide qu'on retrouverait ces caractères ancestraux plus ou moins confondus dans le spermatozoïde mûr) ou de *Fegatella*, peut se ramener au type suivant brièvement résumé : Un blépharoplaste dont l'existence et le fonctionnement sont très probablement conditionnés par un centrosome ; un noyau normal relié à l'appareil basal proprement dit par un appareil secondaire émané vraisemblablement de la chromatine et fonctionnant comme le système rhizoplaste, condyle, centronéma ; tous les autres éléments présents dans une cellule normale, c'est-à-dire un plaste fonctionnel élaborateur d'amidon, un ergastome mobile, un vacuome et un cytome.

D'après MOTTE, la spermatide des Muscinées et des Hépatiques serait construite sur un type cellulaire restreint : « la spermatide, dit cet auteur, cellule indifférenciée, évolue dans un sens migrateur ». Ainsi la spermatide serait une cellule indifférenciée « une cellule rudimentaire » ne conservant dans son protoplasme que ses trois structures essentielles, c'est-à-dire un noyau, un chondriome, et un vacuome d'ailleurs

1. P. A. DANGEARD (*Le Botaniste*, Série XXII. Fasc. 1-2) a indiqué récemment encore chez *Polytoma uvella*, l'existence d'une zone à chromidies, cytoplasmique, et d'une zone à grains d'amidon, correspondant au chromatophore des *Chlamydomonadinées*.

réduits. » Nous ne sommes pas de cet avis. Au cours de l'évolution qui transforme le type cellulaire normal du gamétophyte, il se produit une simplification numérique, c'est-à-dire que le nombre de plastes par exemple, se réduit à un et que la taille générale de la cellule diminue mais corrélativement, il se produit au contraire, une complication dotant la spermatide d'éléments nouveaux comme ceux de l'appareil locomoteur, par exemple.

La spermatide est une cellule hautement différenciée, adaptée à la vie autonome et l'évolution dans le sens migrateur avec la constitution d'un système locomoteur, est un rappel ancestral de l'adaptation primordiale de tous les éléments cellulaires à l'existence libre.

Le chondriome paraît être peu développé dans la spermatide de *Marchantia* et de ce côté, nous ne pouvons nous permettre aucune analogie entre les éléments remarquables chez les flagellés et ceux observés dans la cellule sexuelle mâle de cette hépatique. L'appareil basal ou blépharoplaste est évidemment identique dans les deux cas, et les flagelles de la spermatide de *Marchantia* sont sous sa dépendance. Cet appareil locomoteur occupe, dans le filament spermial, la partie antérieure proximale des flagelles. Le noyau est traîné à l'arrière à l'inverse de ce qui se passe dans les spermatozoïdes des animaux.

Pour MOTTE cet appareil locomoteur n'existe en quelque sorte pas et il n'y aurait, à la partie antérieure du spermatozoïde de *Pellia fabroniana* par exemple, qu'un capuchon mitochondrial. Il est difficile, si l'on admet l'interprétation de MOTTE, de pousser loin les comparaisons entre la structure des spermatozoïdes des animaux et des végétaux et celle des flagellés. Que penser de cet acrosome mitochondrial présidant aux mouvements ?

Dans notre interprétation nous continuons à admettre que le spermatozoïde végétal n'est qu'un spermatozoïde animal inversé. Les structures peuvent dès lors être homo-

loguées, les unes aux autres, de la façon suivante. Le plaste situé à la partie postérieure devient l'acrosome, le noyau occupe la partie moyenne; la pièce moyenne et le blépharoplaste correspondent à l'appareil basal.

La genèse des anthérozoïdes des Fucacées est également un sujet très débattu dont se sont occupés de nombreux auteurs, dont GUIGNARD [66], RETZIUS, MEVES [101], KYLIN [86, 86 bis], MANGENOT [95 bis].

GUIGNARD, KILYN, MANGENOT ont trouvé un chromatophore dans l'anthérozoïde mûr, RETZIUS, MEVES ont trouvé un nebenkern et un simple point rouge sans chromatophore.

MANGENOT paraît avoir élucidé la question, de façon définitive; dans l'anthéridie des Fucacées, les chromatophores sont toujours visibles et évolueraient parallèlement aux chondriosomes. La différence entre les deux systèmes serait nette. Les plastes se chargent de carotène et MEVES n'aurait pas vu que, sous l'enclave osmiophile pigmentaire (MANGENOT, p. 1199) « *il se cache un plaste élaborateur* ». Le nebenkern serait en outre un organe complexe, composé de 4 à 8 mitochondries et le corps du spermatozoïde ne serait pas uniquement constitué par le noyau, mais également par une importante masse de cytoplasme.

Cette haute différenciation du spermatozoïde des Fucacées avec conservation de la structure cellulaire typique, rappelle les zoospores des Phéosporées, a fait remarquer MANGENOT.

A notre tour, nous noterons l'analogie de structure qui se manifeste entre les spermatozoïdes des Fucacées et la spermatide des Hépatiques. Il se peut très bien que la spermatide de *Marchantia* corresponde à un mode de reproduction ancestral par organes équivalant à des zoospores pouvant mener, du fait de la présence d'un plaste, une existence autonome. Le stade spermatozoïde réaliserait une étape supplémentaire de différenciation sexuelle coïncidant avec une fécondation plus facile ne nécessitant pas la présence de zoospores libres et résistantes.

CHAPITRE V

LES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES DES HÉPATIQUES : PROBLÈME DE LA SYMBIOSE, ET SPERMATOGÉNÈSE PATHOLOGIQUE

La présence de champignons dans les rhizoïdes et le thalle des Hépatiques est un fait connu depuis très longtemps.

LEITGEB, GOEBEL, NEMEC, PEKLO, GOLENKIN, CAVERS, GARGEANNE, BEAUVERIE, BOLLETER, GRUN se sont occupés de la question entre 1881 et 1914.

Dans une période plus rapprochée de nous DENIS, NICOLAS, RIDLER, MAGROU, DOMBRAY, CORNER ont travaillé sur ce sujet.

On trouve des champignons parasites dans un grand nombre d'espèces d'Hépatiques et indifféremment, semble-t-il, chez les Marchantiées et les Jungermaniées.

On a beaucoup discuté d'ailleurs, les rapports de l'hôte et du champignon commensal, pour savoir s'il s'agissait de symbiose ou de parasitisme; l'incertitude est demeurée d'autant plus grande, à ce sujet, que l'on sait encore, malgré de nombreux travaux, très peu de choses sur le développement de ces champignons, leur structure et leur mode de reproduction.

LEITGEB est le premier observateur qui ait étudié la présence des champignons parasites des Hépatiques.

GOEBEL, qui a étudié *Treubia insignis*, n'a pas trouvé de différences entre les thalles fertiles et les thalles stériles. Les thalles infestés portaient des fructifications et étaient vigoureux.

Pour PEKLO, [116 et 117] et NEMEC [110 et 111] (qui avait étudié particulièrement *Calypogeia trichomanis*) les thalles normaux seraient dépourvus de mycorhizes, seuls les thalles en mauvaises conditions seraient infestés.

GOLENKIN [63] fit porter ses premières observations sur *Marchantia palmata*, *Marchantia paleacea*, *Preissia commutata* et trouva, par la suite, que les endotrophes se retrouvaient chez d'autres Marchantiacées, les rencontrant chez *Fegatella conica*, *Targionia hypophylla*, *Plagiochasma elongatum*.

Par contre GOLENKIN signale l'absence de mycorrhizes du thalle des espèces suivantes : de *Marchantia polymorpha* (sauvage ou cultivée). *Lunularia* (cultivée) de diverses *Fimbriaria* de *Reboulia hemisphaerica*, *Dumortieria* sp. *Grimaldia*, *Clevea*, *Corsinia*, de diverses Ricciacées toutes cultivées.

Le champignon ne nuit pas à l'hépatique, d'après GOLENKIN, et ne pénètre ni dans les inflorescences ni dans les corbeilles à propagules (ce dernier point est d'ailleurs inexact).

Les conclusions du travail de GOLENKIN sont assez embrouillées mais l'auteur déclare, qu'en somme, l'infection est rare.

GOLENKIN a rencontré également le champignon chez *Pellia epiphylla* et *Pellia calycina*. Il ne l'a trouvé ni chez *Blasia* ni chez *Anthoceros*. Nous noterons en passant, à ce propos que nous avons rencontré un champignon chez *Anthoceros laevis* (fig. 21, pl. 3). Le champignon est très nettement un endophyte, on le voit perforer les cloisons, se pelotonner dans les cellules, provoquer de la part de la membrane de l'hépatique des réactions diverses se traduisant par des boursouflures autour des pores de pénétration intercellulaires ; enfin il nous a semblé que ce champignon modifiait les chromatophores dont il amenait la dégénérescence.

Nous avons souvent rencontré dans les cellules de l'*Anthoceros laevis*, des chromatophores étiolés dont le pyrénoloïde était naturellement coloré en rouge. La coloration provenait des éléments très nombreux, comme on le sait, du pyrénoloïde

composé (fig. 21, Pl. 3). Cette coloration rouge était due à une imprégnation du pyrénoloïde par les pigments carotinoïdes provenant de la destruction de la chlorophylle périphérique ou à une activité propre des pyrénosomes. Nous n'avons pu établir faute d'un matériel suffisamment abondant, la relation qui existait entre la présence du champignon et les modifications du pyrénoloïde.

STAHL [139] a émis, en 1900, une curieuse hypothèse au sujet des mycorhizes des Hépatiques. D'après lui, il existerait un rapport variable entre l'intensité de la transpiration chez les Hépatiques, la présence ou l'absence de champignons parasites, et l'état sous lequel se trouvent les hydrates de carbone résultant de l'assimilation chlorophyllienne. Les Marchantiées seraient riches en amidon, pourvues d'organes de transpiration différenciés, les Jungermanniées non pourvues d'appareils spéciaux permettant des échanges d'eau importants, posséderaient au contraire des sucres en abondance et des mycorhizes. Ces vues sont évidemment inexactes puisqu'on a trouvé des endophytes, par la suite, chez les Marchantiées et que l'amidon est parfois très abondant chez certaines Jungermanniées.

Pellia renferme par exemple de l'amidon en abondance. Il semble que l'absence ou la présence d'amidon corresponde à des phénomènes de convergence physio morphologiques : les hépatiques à fronde formée d'un thalle posséderaient de l'amidon en abondance, en vertu de conditions biologiques identiques. Le développement de cellules en masses compactes, comme c'est le cas pour les *Marchantiées*, *Pellia*, et *Anthoceros* d'autre part, semblerait favoriser la transformation des sucres en hydrates de carbone, ou ralentir la réaction inverse. Il se peut qu'il y ait dans les vues de STAHL une part de vérité, c'est-à-dire qu'on réussisse un jour à tirer des renseignements importants d'une étude quantitative précise de l'état des hydrates de carbone dans les hépatiques à thalle ou à feuilles. Il est possible, c'est ce qu'on remarque d'ailleurs

empiriquement, que l'amidon soit toujours moins abondant dans les cellules des hépatiques à feuilles.

BEAUVERIE [6] a découvert en 1902 un champignon endophyte chez *Fegatella conica*, et l'a assimilé à un *Fusarium*.

Le caractère symbiotique de l'infestation serait un fait général, pour cet auteur, et les individus les plus vigoureux seraient également les plus infestés.

Lorsque l'Hépatique croît sur un sol sans humus, son thalle serait moins développé et le mycélium endophyte serait absent, au contraire les échantillons récoltés sur l'humus seraient toujours infestés.

BEAUVERIE a essayé de vérifier son hypothèse de la symbiose par des expériences physiologiques et aurait trouvé que les phénomènes respiratoires chez *Fegatella* l'emportaient sur les phénomènes d'assimilation chlorophyllienne (expériences faites en atmosphère carbonique confinée). Ainsi la chlorophylle serait très peu active et l'Hépatique tirerait son carbone en majeure partie de l'humus par l'intermédiaire de son endophyte.

GALLAUD [57], dans son étude générale sur les mycorrhizes endotrophes, a donné quelques renseignements succincts sur la localisation du champignon parasite de *Pellia epiphylla* et son comportement. Dans cette hépatique, le champignon, disait-il, se localise dans la nervure et ne se rencontre jamais dans les parties minces du thalle. Il n'a observé la présence du mycélium ni dans le sporogone, ni dans son pédicelle. Le mycélium intra-cellulaire observé avait de 4 à 5 μ de largeur et formait dans les cellules des pelotons dont les filaments se retrécissaient au passage des cloisons ; l'infestation se produisait par les rhizoïdes. GALLAUD étudia également *Fegatella conica* et donna, pour cette seconde hépatique, une répartition du mycélium analogue à celle de *Pellia*, le mycélium, là encore respectant les zones minces et périphériques chlorophylliennes.

CAVERS [22] observa une infestation des gamétophytes

dans les espèces suivantes : *Lophocoléa minor*, *Radula complanata*, *Cephalozia bicuspidata*, *Plagiochila asplenioides*. Les archégones pouvaient être attaqués et les sporogones emplis d'hyphe.

Aneura pinguis renferme également un endophyte à l'état normal, mais DENIS [45], a trouvé un *Aneura* dont le thalle coralloïde était partiellement dépourvu de chlorophylle.

DENIS a émis, sur cette observation des vues ingénieuses qui rapprochées de celles de TREUB ont permis à MAGROU d'échafauder une théorie beaucoup plus vaste, en rapport avec les idées de NOEL-BERNARD sur l'évolution dans la symbiose, et visant à l'explication de l'origine des plantes vasculaires par l'intermédiaire des Hépatiques et des Lycopodiacées. DENIS a rapproché l'*Aneura* à thalle vert et faiblement infesté des prothalles de Lycopodes verts et vivant à la lumière : *L. inundatum* et *L. cernnum*. D'autre part, il a assimilé l'*Aneura* chlorosé et fortement infesté qu'il avait étudié, aux Lycopodes saprophytes décolorés par une existence héliophobe : *L. Selago*, ou *L. Phlegmaria*.

Mais l'auteur n'a pas manqué de noter lui-même l'extrême fragilité de ces analogies, et bien que GARGEANNE [59] ait vu dégénérer les plastes de *Jungermannia connivens* envahie par des hyphes, il remarque qu'il se peut fort bien que l'obscurité ait précisément placé la plante dans des conditions favorisant l'infestation.

Au moment même de faire imprimer ce travail on nous a fait parvenir des échantillons d'*Aneura pinguis*, et d'*Aneura multifida*. Dans les thalles de ces deux hépatiques, mais surtout dans celui d'*Aneura multifida*, nous avons rencontré des endophytes. L'infestation a l'air d'être constante dans les quelques thalles que nous avons examinés.

Les tissus chlorophylliens de la face supérieure du thalle ne semblent pas être toujours respectés. Toutefois l'infestation superficielle de ces thalles n'est pas très intense et le champignon se trouve çà et là localisé dans de petites zones de

deux à cinq cellules. Le champignon en revanche est extrêmement abondant dans les tissus profonds.

Il y exerce des ravages considérables, incompatibles avec la notion de symbiose. Il pénètre dans les cellules et détruit tout le protoplasme. Le mycélium forme des pelotons remplissant entièrement la cavité cellulaire ; dans d'autres cas, on le trouve sous la forme de vésicules hyalines telles que les auteurs en ont décrites, et MAGROU [94] en particulier chez *Pellia*. Les cellules voisines sont normales et il semble bien que la présence du champignon est accidentelle et relève du pur parasitisme comme nous l'avons observé pour l'*Anthroceros laevis* par exemple.

RIDLER [126] a fait une étude complète du champignon présent dans *Pellia epiphylla*. Cet auteur a montré qu'il s'agissait d'un *Phoma* envahissant constamment le gamétophyte et plus rarement le sporophyte. D'ailleurs, dans le dernier, le mycélium se montre beaucoup plus pathogène que dans le thalle par son action sur les éléments cellulaires. Dans ce cas la relation entre l'hôte et le champignon hébergé ne serait pas d'ordre symbiotique puisque l'infestation pourrait amener une véritable castration.

RIDLER [126] a observé en outre des hyphes jusqu'au voisinage des anthéridies, mais n'a jamais vu de pénétration à l'intérieur des cavités sexuelles. Nous rapportons ici à titre documentaire les mots même dont s'est servi cet auteur : « In several cases the fungus has been observed in proximity to antheridia. The fungus enters through the aperture of the cavity. No direct connection has been observed so far between hyphae in the thallus and in the antheridium. The fungal hyphae are often constricted similiary to those of the rizoïds. When the antherozoïds have escaped the hyphae fill the empty cavity. »

Nous avons observé des faits analogues à ceux qu'a décrits RIDLER, en ce qui concerne la présence d'un champignon parasite dans les sporogones de *Madotheca platyphylla*. D'autre

part, nous avons découvert un champignon parasitant les anthéridies de *Marchantia polymorpha*.

RIDLER a étudié ultérieurement *Lunularia* [128] et y aurait trouvé une infestation constante due à un *Phoma*.

G. NICOLAS [112] a trouvé chez *Lunularia cruciata* des formations mycorrhiziques analogues à celles rencontrées par GOLENKIN chez *Targionia* et *Plagiochasma*. La zone infestée du thalle « est une bande plus ou moins épaisse occupant toute la largeur de la nervure, et parallèle à l'épiderme inférieur dont elle est séparée par quelques assises de cellules indemnes riches en amidon, alors que celles qui sont infectées en sont dépourvues ».

Ce tableau est celui de l'infestation normale, mais dans d'autres cas plus rares, le champignon circule partout dans le thalle, respectant seulement, comme GALLAUD l'avait indiqué pour *Pellia*, les régions chlorophylliennes. En accord avec GOLENKIN, NICOLAS a conclu d'abord que les thalles stériles seraient indemnes de l'attaque du champignon, mais il est revenu dans la même note sur cette idée, ayant observé ultérieurement, dit-il, quelques thalles mâles de *Lunularia* exempts de champignons.

Enfin dans un second travail sur la Biologie de quelques Bryophytes, G. NICOLAS [112 bis] a conclu que l'infestation de *Lunularia cruciata* était plus rare et moins fréquente que chez *Fegatella conica*. Dans ce même travail, l'auteur a étudié *Targionia hypophylla*, *Plagiochasma rupestre*, *Reboulia hemisphaerica*, *Fegatella conica*, *Pellia fabroniana*. *Targionia* ne renfermerait pas d'endophytes, alors que GOLENKIN [63], en avait signalé. *Reboulia*, contrairement aux observations de HAUPT et en accord avec celles de GOLENKIN, serait exempt d'infestation. Celle-ci serait, en revanche, constante d'après les observations de G. NICOLAS et de ses élèves, chez *Fegatella conica* : c'est là aussi l'opinion de BEAUVERIE, BOLLETER, GOLENKIN, CAVERS, etc.

D'après NICOLAS, il y aurait probablement une relation

entre la production d'appareils sexuels chez *Fegatella* et la présence du champignon. Mais cet auteur est loin d'être absolument affirmatif en ce qui concerne la théorie générale de la symbiose chez les Hépatiques, dans ses rapports avec les phénomènes de sexualité.

L'analyse de ses travaux et de ceux de ses devanciers, permet de soupçonner encore, à l'heure actuelle, le manque de généralité de l'infection.

Nous avons récolté des thalles de *Fegatella* fructifiés d'une façon très générale dans toute une région (Région de Presles-Viarmes dans l'Oise.) Cette hépatique y pousse en grande abondance le long des canaux d'irrigation, des petits ruisseaux, sur les parois des petits déversoirs. Partout, quel que soit le substratum, l'hépatique se trouvait en parfait état, et portait de très nombreuses fructifications mâles. A ce sujet, nous remarquerons, en passant, que nous n'avons pas pu vérifier les remarques de BRAUVERIE établissant une relation entre la nature du substratum, la présence de champignons endophytes, et la fructification. C'est ainsi que les thalles poussant sur l'humus seraient infestés et plus fructifères que les thalles croissant sur la pierre : ces thalles humicoles seraient également plus trapus et plus chlorophylliens. En réalité, nous avons trouvé des thalles de *Fegatella* fructifiés indifféremment sur les deux substratum, et sans constater aucun dimorphisme. On trouve parfois des thalles de *Fegatella* très allongés poussant directement sur la pierre, et plus minces que les thalles ordinaires. L'allongement n'est pas dû à l'absence du champignon mais à l'action directe du substratum. En effet, ces jeunes thalles se rencontrent toujours en des endroits où l'hépatique n'a pas encore poussé et se trouve de ce fait, à même la pierre : en outre ces thalles allongés sont généralement en contact plus direct avec l'eau. Ces thalles allongés représentent pour nous de jeunes générations ; ils sont extrêmement vigoureux et ne paraissent pas moins chlorophylliens que les thalles plus trapus.

Nous noterons en passant que les rhizoïdes eux-mêmes, des thalles de *Fegatella* humicoles dont nous disposions, étaient indemnes de l'infestation que l'on ne manque pas de constater quelquefois dans les plus vieux de ces organes. On voyait seulement circuler à l'extérieur des rhizoïdes dans le véritable feutrage qu'ils constituent par leur abondance, des filaments que nous avons identifiés à un mycélium de Basidiomycète. Ceci contribue à prouver une fois de plus que des champignons absolument étrangers à toute symbiose, vivent en permanence sur le substratum où pousse l'hépatique.

MAGROU [94] a repris en 1925 la question de la symbiose chez *Pellia epiphylla* dans un travail très complet traité expérimentalement. MAGROU a confirmé les vues de RIDLER sur la présence constante du champignon dans le gamétophyte en donnant des précisions nombreuses. Il a notamment distingué toute une série de thalles plus ou moins infestés, et établi l'existence d'un cycle avec alternances. Il existerait un antagonisme entre la croissance de l'endophyte et la poussée des archégones. Lorsque, par hasard, le champignon pousserait son développement trop près des appareils fructifères, il serait détruit à ce niveau par l'hépatique. Ainsi l'infestation des sporogones serait accidentelle et releverait comme l'a indiqué RIDLER, non de la symbiose, mais d'un état pathologique.

Il ressortirait des expériences de BEAUVERIE, et de CAVERS, que les germinations et les thalles seraient plus vigoureux en milieu infesté. Les conclusions de MAGROU sont analogues en ce qui concerne *Pellia* dont les spores ne germent bien que sur un sol infesté. En milieu stérile MAGROU a montré qu'il était nécessaire de ramener le Ph à une valeur égale à 4,85 pour avoir un développement normal. D'après MAGROU, le champignon jouerait dans les cellules de l'hépatique le rôle de régulateur de la nutrition ; c'est aux nombreux arbuscules développés par le champignon et multipliant les surfaces d'échanges, que serait dévolu ce rôle.

Il semble que si les phénomènes de symbiose existent réellement chez les Hépatiques, ce doit être plutôt chez les Hépatiques à thalle que chez les Hépatiques à feuilles. Au contraire de ce qui se passe pour les premières le champignon trouve dans les secondes où se loger sans que la vitalité de l'hépatique ait trop à souffrir, aussi les auteurs ont toujours noté, et nous l'avons nous même vérifié dans un grand nombre de cas que les tissus chlorophylliens étaient relativement respectés par les champignons.

Nous avons rencontré beaucoup d'hépatiques à feuilles hébergeant des hyphes mycéliens, qu'il s'agisse de *Madotheca*, *Frullania*, *Lejeunea*, *Plagiochila*, *lophocolea*. Nous ne pouvons sur ces simples observations, dire s'il s'agissait de cas accidentels ou non.

Nous avons cultivé, sans succès, l'endophyte signalé par CORNER dans *Plagiochila asplenioides* espérant l'identifier avec le parasite précédemment reconnu par cet auteur, mais nos efforts restèrent stériles car il nous fut impossible, en l'absence de fructifications, de déterminer à quel champignon nous avions affaire.

Toutefois, aussi bien pour *Marchantia polymorpha* que pour *Plagiochila asplenioides*, nous avons pu isoler le parasite en culture pure (Milieu de Lütz).

Le parasite de *Marchantia polymorpha* nous a ainsi donné des pycnides tout à fait semblables à celles que nous avons observées dans les chapeaux mâles, et nous n'hésitons pas à identifier le champignon de nos cultures avec celui qui circulait dans les appareils fructifères mâles de cette hépatique.

Il semble en ce qui concerne les Hépatiques à feuilles qu'il existe constamment, à la surface du thalle, des filaments mycéliens à peu près dans toutes les espèces, et jusqu'à proximité des cellules apicales.

Mais il est parfois difficile de dire, quand on rencontre des feuilles parasitées, si la destruction des tissus est la cause ou la conséquence de la pénétration du champignon. C'est là

un point sur lequel les auteurs devraient réfléchir, car les hépatiques vivent presque toujours au-dessus de vieilles générations réduites à des cadres cellulaires vides presque toujours bourrés de champignons.

Quelles sont les meilleures conditions de pénétration du champignon ? Qu'il s'agisse d'hépatiques à feuilles ou des chapeaux de nos *Marchantia*, il nous a paru constamment que l'immersion, voire l'humidité de l'atmosphère sous cloche, en activait la pénétration. DOMBRAY [46], n'est pas de cet avis: il considère avec GOLENKIN que la présence du champignon endophyte est une adaptation à la vie xérophyte et affirme (p. 164), que « dans une atmosphère saturée d'eau ou dès le point d'immersion dans l'eau, il y a suspension brusque de tout accroissement du filament de champignon ».

Mais DOMBRAY ne définit pas son opinion sur la nature des rapports entre l'hôte et le parasite ; ce n'était pas l'objet de la dernière partie de son travail se rapportant à la présence d'un champignon et où il a voulu montrer que les « oléocorps » ne constituaient pas un moyen de défense contre les champignons. En effet, les endophytes, d'après DOMBRAY, s'attaqueraient aux corps oléiformes eux-mêmes.

Mais ce qui nous intéresse, c'est cette observation du même auteur d'après laquelle les thalles à champignons de *Marchantia* seraient plus épais et plus chorophylliens. Les corps oléiformes y seraient plus abondants et de façon générale sous l'action de l'endophyte les tissus de l'hôte réagiraient « en s'hypertrophiant, et développant leur activité ».

Quels sont les rapports exacts entre la résistance des thalles et celle de leur fructification ? Nous avouons que nous avons observé des phénomènes absolument discordants et que seule une statistique serrée pourrait établir la vérité, et encore..., ces phénomènes varient, semble-t-il, considérablement selon la station, le climat, l'exposition, ainsi que d'autres facteurs. Dans certains cas, nous avons observé

qu'en mettant sous cloche des *Marchantia* fructifiés et infestés, on voyait les chapeaux mâles dégénérer rapidement et pourrir avant maturation. Dans d'autres cas, on peut trouver des chapeaux mâles avortés sur un thalle complètement infesté prolongé par un jeune thalle, à géotropisme négatif absolument indemne. Le prétendu « *bloquage* » réalisé par l'atmosphère humide, qu'a signalé DOMBRAY, correspond à une certaine réalité que l'on pourrait peut-être expliquer de la façon suivante. L'atmosphère humide provoque des phénomènes de deux ordres : 1^o elle active le développement du champignon dans les cellules âgées et diminue la résistance des tissus de l'Hépatique appartenant aux vieilles générations (chapeaux, thalles âgés) ; 2^o elle active la prolifération des cellules initiales (Voir les expériences de R. DOUIN et DAVY de VIRVILLE [48 bis], celles de P. LESAGE [90 bis] sur l'action du milieu sur *Fegatella conica*, et celles de DAVY DE VIRVILLE [41 bis] sur l'action du milieu sur les Muscinées) et provoque, par un véritable phénomène de régénérescence l'apparition de pousses jeunes croissant avec rapidité et indemnes de toute infestation.

Cette plus grande sensibilité des chapeaux mâles, se manifeste de même lorsqu'on étudie l'influence de l'obscurité, car les appareils fructifères sont beaucoup plus affectés par un séjour à l'obscurité que le thalle lui-même.

Mais il existe une autre série de faits contraires où les chapeaux ont une résistance plus grande que celle des thalles. On peut trouver, en effet, des thalles complètement infestés et noircis porteurs de chapeaux qui se trouvent, sinon dans un état absolument normal, du moins encore très chlorophylliens. Ces modalités différentes dans l'action du champignon, se trouvent résumées dans notre figure 19 bis qui montre l'état des thalles et des fructifications après un séjour sous cloche : on trouve des fructifications indemnes et d'autres infestées. Les thalles fructifères mâles de *Marchantia* récoltés dans les couches du Jardin Botanique du Muséum étaient

souvent dans un état défectueux, tachés de macules brunâtres ou même entièrement noircis et couverts de mycélium. Les fructifications très abondantes (de 3 à 5 par grande digi-

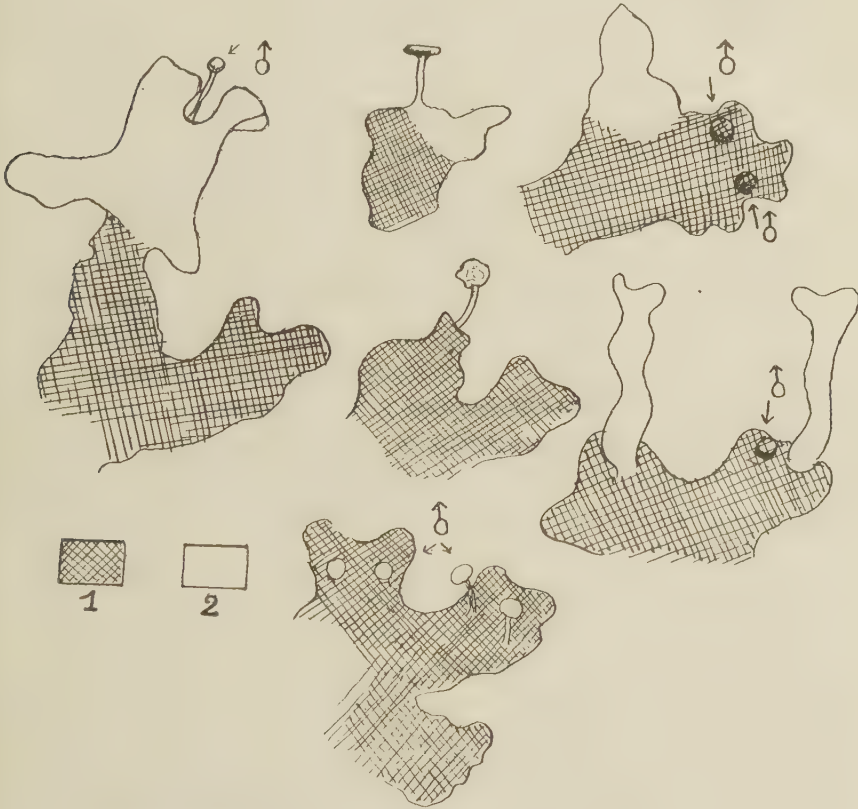


Fig. 19 bis. — *Marchantia polymorpha*.

Thalles infestés mis sous cloche en atmosphère humide.

1° portions anciennes du thalle, et infestées.

2° portions jeunes et non infestées consécutives à la régénération donnant naissance en atmosphère humide à des thalles à géotopisme négatif.

On voit que tous les cas se rencontrent et que les chapeaux peuvent demeurer indemne ou être infestés.

tation de thalle, dans certains cas) demeuraient très longtemps vertes et à l'état de boutons. Le mycélium paraissait n'évoluer qu'assez lentement, d'abord à l'intérieur des appareils sexuels. Ces boutons restaient très chlorophylliens, ce qui constituait un contraste frappant avec le thalle, de

coloration marron, mais finissaient par présenter, eux aussi, des signes d'altération plus profonde avec macules brunes, extériorisation du mycélium, etc.

Certainement on pourrait être tenté de conclure que la présence abondante du champignon a causé cette abondance de fructifications ; mais il est fort possible qu'il n'y ait aucun rapport entre les deux phénomènes, ou même un rapport explicable d'une façon diamétralement opposée.

Les chapeaux mâles de *Marchantia* sont des organes relativement volumineux, admirablement bien différenciés, porteurs d'une quantité de chlorophylle considérable qui leur permet, dans une grande mesure, une existence autonome. Il est probable que les organes sexuels n'empruntent au thalle père que les sels et l'eau, les hydrocarbures nécessaires, pouvant être fabriqués *in situ* dans les chapeaux. Ceci explique que certains chapeaux continuent tout d'abord à croître sur les thalles profondément déficients au point de vue physiologique, car ils mènent une existence autonome.

L'abondante création d'appareils fructifères a pour effet d'épuiser profondément les thalles générateurs, et d'ailleurs l'apparition de la sexualité n'est-elle pas elle-même un symptôme de sénescence dans de nombreux cas ?

L'épuisement causé par la sexualité avec la libération d'énergie qu'elle comporte, peut très bien être la cause de l'infestation. Une fois les appareils mâles produits en abondance, à l'état d'ébauche, le thalle proprement dit dégénère plus ou moins et la porte est ouverte à l'endophyte-parasite.

C'est seulement à la faveur d'une défaillance de l'hépatique causée accidentellement, soit au moment de la fructification, soit à tout autre instant de son existence, que le champignon s'introduit dans ses tissus. La notion, selon laquelle le champignon « respecterait » les tissus chlorophylliens, est tout à fait erronée, ou plutôt ne correspond pas en réalité à la simplicité des faits. On peut constater généralement, lorsqu'il y a infestation dans un thalle, que ce sont

les cellules de la face ventrale, la plus proche du sol qui sont infectées. Ces cellules sont de vieilles cellules bourrées d'amidon et ne présentant absolument aucune résistance à l'infestation. Le « respect » du champignon pour les tissus chlorophylliens est le reflet de son impuissance à attaquer ce qui est véritablement sain.

MAGROU a trouvé une réaction de la part de l'hépatique, chez *Pellia*, par laquelle le champignon serait détruit au voisinage des sporogones. Il n'y a vraisemblablement pas de tels phénomènes de protection autour des appareils mâles de *Marchantia* relativement respectés d'abord (le champignon trouvant une nourriture suffisante dans les thalles affaiblis), puis sujets à l'infestation, par la suite.

Pour une même station, c'est-à-dire en tenant compte des différents facteurs écologiques qui conditionnent la sexualité, cette dernière serait la règle chez *Marchantia polymorpha* et elle apparaîtrait spontanément, à certains moments de la vie du végétal, selon un rythme plus ou moins régulier.

Les prétendues alternances d'infestation et d'immunité coïncidant avec le mode de multiplication par produits sexués ou par propagules, ne serait qu'un reflet du déroulement régulier d'un cycle végétatif dont la période sénescence serait tout naturellement représentée par les thalles fructifères.

Mais certains auteurs ont été plus loin, et non contents de voir dans les endotrophes un agent favorable à l'hépatique et favorisant chez elle l'apparition des organes sexuels, ont fait de ces parasites, un facteur ayant conditionné les phénomènes d'évolution qui auraient conduit des *Bryophytes* aux *Pteridophytes*.

C'est ainsi que MAGROU reprenant les idées de NOEL BERNARD [112 *ter*] et se basant sur ses travaux et les observations de DENIS et de RIDLER écrit : « Mlle RIDLER a observé exceptionnellement la pénétration du champignon dans le sporophyte dont il modifie, en pareil cas le développement

si bien qu'on peut voir dans ces sporogones infectés de *Pellia*, l'Image de ce qu'ont dû être, chez les ancêtres lointains de nos plantes vasculaires, les premières tentatives d'adaptation à la vie commune du sporophyte et des champignons, tentatives qui devaient aboutir « au cours des âges, à la symbiose obligatoire et parfaitement équilibrée dont TREUB a décrit l'exemple chez l'embryon du *Lycopodium cernuum*. »

Nous ne discuterons pas le bien fondé de ces conceptions phylogénétiques, ce pour quoi nous ne sommes pas qualifié, mais nous ferons remarquer simplement que la théorie de la descendance des Ptéridophytes à partir des Bryophytes n'est, pour si séduisante qu'elle soit, qu'une hypothèse ne recevant pas l'assentiment général de tous les Biologistes, à l'heure actuelle. L. BLARINGHEM, en particulier, a insisté sur les différences qui séparent les Cryptogames vasculaires des Bryophytes. « Il est curieux, a-t-il dit, que l'on ait opposé et rapproché les Fougères et les Muscinées, à cause des alternances de génération qu'on retrouve, d'ailleurs, chez des êtres aussi différents que les algues et les insectes. En faisant cette comparaison, les traités classiques ont mis dans l'esprit la notion d'une parenté qui est fausse. »

Sur bien des points, en effet, les Cryptogames vasculaires ont des affinités plus marquées avec des végétaux plus élevés en organisation qu'avec les Bryophytes. En particulier le prothalle des Ptéridophytes n'aurait, par exemple, rien de commun avec celui des Bryophytes, étant donné que, chez les premiers, rien ne permet d'y déterminer l'espèce : « il fournit simplement des éléments sexuels. Chez les Mousses, au contraire, l'appareil correspondant permet la séparation des espèces ». La symbiose fut-elle un facteur de l'évolution, à supposer que la généalogie à laquelle adhère MAGROU fut exacte ? C'est encore là une redoutable question.

La notion de symbiose devient très fragile, dès l'instant où l'on sait (RIDLER : Sporogones de *Pellia*, GAVAUDAN : sporogones de *Madotheca*, anthéridies de *Marchantia* par exemple),

qu'il y a de nombreux cas où les organes sexuels sont entièrement détruits (1).

Que peut-on penser d'une symbiose équilibrée réduisant un des commensaux (pour l'hépatique) à une castration totale ou partielle, constituant incontestablement une entrave au développement de l'espèce ?

Le champignon provoque dans certains tissus des désordres si grands, on le verra par la suite, que l'on peut se demander quel est l'avantage qu'en tire l'hépatique.

Le cas des Hépatiques paraît si litigieux, à la lueur de toutes les observations contradictoires faites jusqu'à présent, qu'il semble prudent, malgré des résultats expérimentaux intéressants, mais ne donnant qu'un aspect du problème total des rapports de l'hôte et du champignon, de s'abstenir de toute hypothèse prématurée.

Il résulte de nos recherches personnelles que les éléments sexuels mâles du *Marchantia polymorpha* ne sont pas à l'abri d'une infestation fungique. C'est par hasard que nous avons rencontré un champignon dans les chapeaux mâles de *Marchantia*, mais une étude suivie pendant deux années, nous a montré qu'il ne s'agissait pas d'un cas accidentel mais constant pour la station d'où provenaient les échantillons. Ces derniers étaient d'ailleurs les mêmes que ceux sur lesquels nous étudions les phénomènes de spermatogénèse, et avaient pour commune origine, le jardin du Muséum d'Histoire naturelle de Paris. Nous avons remarqué souvent, avant de trouver la présence d'un champignon, le brunissement rapide et le flétrissement prématuré de certains chapeaux mâles.

1. La notion de symbiose elle-même est sujette nous n'en doutons pas à être fortement révisée et modifiée. On a systématisé à l'excès les théories qui s'y rapportent. Le cas des lichens est l'origine, on le sait, de cette conception « dualiste » (?) de la vie. Il est piquant de constater aujourd'hui que les lichens, eux-mêmes, ont précisément fourni des armes à ceux qui s'élèvent contre la réalité de cette conception trop souvent métaphysique de la symbiose. DANILOV (10 bis) par exemple, a montré que chez un lichen : le *Leptogium Issatschenkoï*. Elenk., le champignon s'isolait dans des vésicules mucilagineuses secrétées par l'algue. Cette dernière, peut se libérer spontanément de son associé et conserver pendant quelques temps une sorte d'immunité à la pénétration du champignon, qui disparaît d'ailleurs vite quand les colonies prennent de l'âge.

Les macules noirâtres, çà et là visibles sur les chapeaux révélèrent, comme nous nous en sommes rendu compte par la suite en coupant ce matériel, une altération plus profonde due à un élément parasite. Dès nos premières observations, nous avons pu immédiatement mettre en évidence ce fait important, non signalé par RIDLER chez *Pellia*, que les filaments mycéliens ne se contentaient pas de demeurer à la périphérie des anthéridies, mais y pénétraient, en divers sens, les parasitant plus ou moins complètement et déterminant parfois une castration totale de l'organe.

Nous avons trouvé, sur les thalles, des chapeaux mâles durant toute l'année, sauf une courte période estivale. Les chapeaux très petits en automne, avaient de un à deux millimètres de diamètre ; ils s'accroissaient peu pendant l'hiver, doublant seulement de volume, vers le mois de janvier. Il n'y a, semble-t-il, pas de relations entre l'état extérieur des chapeaux et l'état de maturation des anthéridies.

Les anthéridies mûres peuvent indifféremment appartenir à de grands ou à de petits chapeaux.

Parfois la maturation semble cependant être très précoce, et c'est ainsi que nous avons trouvé des spermatides mûres dans des chapeaux n'ayant pas plus de trois à quatre millimètres de diamètre.

Un séjour d'une quinzaine de jours au laboratoire, dans des conditions parfois défectueuses (température trop élevée, atmosphère de cloche confinée et humide), était parfois défavorable à la bonne conservation du matériel, des phénomènes de dégénérescence se manifestaient dus, selon les cas, à des causes physiques, à une infestation fungique, ou à ces deux facteurs réunis. Les tissus anthéridiens dégénéraient les premiers : les cellules de l'enveloppe perdaient leurs plastes et celles de la lignée spermatogène se vacuolisaient ; ces altérations étaient perceptibles, en observation vitale. Dans son travail sur le thalle et les appareils fructifères des Marchantiées, R. DOUIN [48] a insisté sur l'importance des disposi-

tifs d'alimentation des appareils mâles et femelles. La face inférieure du disque mâle, qui nous intéresse seul ici, possède huit faisceaux de poils absorbants recouverts d'écailles protectrices. il y a là évidemment une sorte de véritable « placenta aquifère » dont le rôle est considérable dans l'économie générale du chapeau. Le champignon suit, comme on peut s'y attendre, cette voie de conduction pour pénétrer jusqu'aux anthéridies.

Nos observations nous ont montré que le parasite circulait dans la région des écailles. Nous ne l'avons pas vu s'attaquer aux jeunes cellules formant les poils absorbants et les rhizoïdes, ni directement à ces derniers dans les chapeaux mâles.

Nous ne pouvons malheureusement fournir aucun renseignement sur la circulation du champignon dans le pied lui-même du chapeau. Presque toutes nos coupes, qui étaient destinées primitivement à l'étude de la spermatogénèse, étaient en effet pratiquées parallèlement à la surface des chapeaux pour des commodités d'orientation dans les blocs, aussi n'est-ce que rarement, que le pied lui-même a été conservé. Nous pouvons seulement signaler la présence du champignon dans le disque aquifère. A l'aisselle des jeunes écailles protectrices ou dans ces dernières, elles-mêmes, on rencontre des cellules porteuses de pelotons mycéliens (fig. 20). Ces pelotons intra-cellulaires se comportent comme les endophytes décrits par GALLAUD et les autres auteurs, respectant plus ou moins le noyau et les plastes, selon les cas. Ils sont également en communication avec l'intérieur du chapeau et la partie externe située entre les écailles : nous ne pouvons dire s'ils représentent, à ce niveau, des points de pénétration ou de sortie du champignon. Quoi qu'il en soit, le champignon gagne ensuite les régions profondes du disque mâle et évolue autour des anthéridies, avant de les attaquer. L'infestation ne semble pas s'opérer nécessairement par le pied de l'anthéridie, car nous avons vu, dans de nombreux cas, des hyphes

perforer en abondance la paroi anthéridienne et parvenir directement jusqu'aux cellules de la lignée spermatogène.

Le parasite fructifie dans les points les plus divers des chapeaux. Quelquefois c'est en profondeur, au centre du chapeau, dans une lacune quelconque, ou dans une cavité d'anthéridie ; mais les pycnides peuvent également se rencontrer en surface, leur ostiole ouvert vers l'extérieur, ce



Fig. 20. — *Marchantia polymorpha*. — Pénétration du champignon parasite à l'aisselle d'une écaille du chapeau mâle

Noter la présence du peloton mycélien dans une cellule.

qui assure évidemment la dissémination des spores sur les thalles et les chapeaux voisins.

Les chapeaux finissent parfois par être complètement envahis et la désorganisation de l'intérieur est extrême. Des pelotons denses de mycélium se sont installés dans les lacunes et dans les anthéridies vidées de leur contenu après avoir été dévorées ; néanmoins les chambres chlorophylliennes sont relativement respectées. Les plus gros amas de champignon se rencontrent au voisinage des tissus sexuels et ce fait n'est pas étonnant, car ces derniers constituent, pour le parasite une nourriture de choix. Les anthéridies ont (les

cellules de la lignée spermatogée étant achlorophylliennes), une existence hétérotrophe, et il se produit, par l'intermédiaire du pédicelle, de l'anthéridie, une arrivée de matériaux et minéraux organiques dont profite le champignon. L'hépatique réagit-elle à l'infestation ? S'il est certain, comme nous le verrons plus loin, que certains produits sexuels arrivant à maturité ont acquis une véritable immunité, on ne peut affirmer que les tissus communs des chapeaux réagissent, pour leur compte, d'une façon vraiment efficace. On voit parfois les membranes, il est vrai, s'épaissir considérablement et prendre un aspect sclérenchymateux, tandis que leur coloration se modifie et devient brunâtre ; en outre, les cellules de l'enveloppe de l'anthéridie paraissent parfois subir une sorte de dégénérescence mucilagineuse. Mais ces réactions n'empêchent pas le champignon de poursuivre son œuvre dévastatrice. Le chapeau mâle de *Marchantia* renfermant de très nombreuses anthéridies, ni la castration ne peut pas être totale dans les cas d'infestation et il en est toujours un certain nombre qui paraissent normales.

Comme nous le verrons plus loin, le champignon agit, en somme de trois façons.

1° Directement, en détruisant les tissus sexuels sur place, après pénétration directe dans la cavité anthéridienne.

2° A distance, par les enzymes secrétées ou les produits de son métabolisme.

3° Indirectement, en coupant, plus ou moins aux anthéridies, les voies d'alimentation dans la région inférieure du disque aquifère.

Au cours de cette étude de spermatogénèse tératologique nous avons remarqué certains faits d'ordre cytologique dont nous rapporterons seulement un résumé, les décrivant le plus exactement possible dans leur extrême multiplicité. Nous avons donné enfin une interprétation des rapports de l'hôte et du parasite qui certes ne peut être considérée comme définitive.

Le parasite (nous le savons déjà, l'étude sommaire de sa répartition dans le chapeau, nous l'a indiqué grossièrement), peut agir indirectement, mais aussi directement soit localement, soit à distance. En effet, si nous avons vu de nombreux exemples (une centaine environ) d'anthéridies directement et plus ou moins complètement infestées, contenant un mycélium ayant modifié les cellules sexuelles par sa présence immédiate, nous avons observé, par contre, des cas très nets d'action à distance. Le champignon est peu abondant dans certains chapeaux, où les anthéridies modifiées sont elles-mêmes à une distance plus ou moins grande du trajet du mycélium, à travers le chapeau.

Enfin, nous avons souvent observé des phénomènes atypiques dans l'évolution des cellules sexuelles, sans qu'il nous ait été possible de les rattacher directement à l'action d'un mycélium visible. Mais ces perturbations peuvent néanmoins être le fait du parasite car ce dernier existe presque toujours dans le thalle et peut par conséquent, (puisque nous l'avons déjà vu agir dans le chapeau, même à distance), exercer son action par l'intermédiaire du pédicelle qui sert à l'alimentation du chapeau, pour modifier le milieu interne dans lequel se développent les éléments sexuels.

Dans certains cas l'action à distance est extrêmement nette : par exemple, le parasite est présent dans un chapeau ; on le voit évoluer dans certaines anthéridies ou dans les cellules vulgaires de soutien et de conduction, produisant certaines modifications dont nous parlerons plus loin ; mais, à côté, on trouve, de petites anthéridies absolument indemnes d'une attaque directe et cependant en dégénérescence ou une portion de grande anthéridie également saine en apparence, où les éléments sexuels revêtent des caractères particuliers. Le parasite doit être doué de puissantes sécrétions, à en juger par la disproportion existant entre sa faible masse et les effets produits.

Les cellules modifiées de la lignée spermatogène ont un

volume variable double, quadruple, sextuple du volume normal. Une très grande vacuole en occupe la majeure partie (fig. 21, fig. 17, Pl. III); on y distingue nettement de gros corpuscules métachromatiques, contrairement à ce qui se passe dans les cellules sexuelles normales où ces derniers sont peu abondants. Dans ces cellules, le noyau n'a pas augmenté de volume mais a conservé sa taille primitive, si bien que dans

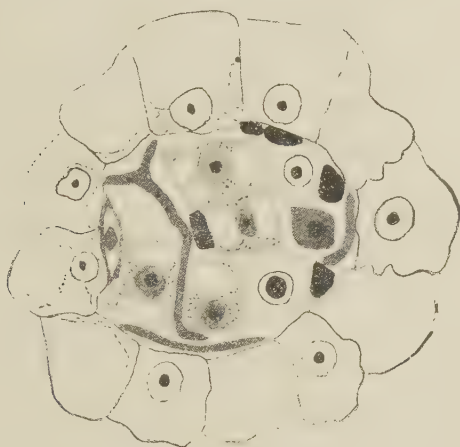


Fig. 21. — *Marchantia polymorpha*. — Anthéridie attaquée par un champignon parasite. Dégénérescence par vacuolisation des cellules spermatogènes.

ce cas l'action du parasite aboutit à un abaissement du rapport nucléoplasmatique. Dans quelques préparations fixées au Flemming nous avons remarqué des symptômes nets de dégénérescence osmiophile dans ces cellules hypertrophiées. Le nombre de corpuscules cytoplasmiques osmiophiles est plus grand que dans les cellules sexuelles normales.

La dégénérescence s'effectue dans l'anthéridie, soit par secteurs, soit par attaque totale de l'anthéridie, à marche progressive et centripète. La dégénérescence par quartiers est extrêmement bien délimitée, et la frontière entre les cellules saines et les cellules mortes ou simplement dégénérées est très nette. Ces « secteurs d'attaque » correspondent en

tous points aux « secteurs mitotiques » que nous avons souvent rencontrés pendant l'étude de la spermatogénèse normale (fig. 18). Il y a évidemment un rapport entre les deux phénomènes. On a affaire, dans un même secteur, à des cellules de même génération qui ont des mitoses synchrones ; ces cellules conservent, entre elles, une parenté physiologique qui les prédispose ou non à l'immunité. Dans le cas de l'« attaque générale », les assises cellulaires les plus externes de la lignée spermatogène, sont très vacuolisées, aplaties, et leur noyau plus ou moins dégénéré s'étale contre une face de la membrane cellulaire. A mesure qu'on gagne le centre de l'anthéridie on trouve des cellules de moins en moins transformées, où les modifications se bornent à une coloration intense et générale du noyau.

Dans tous les phénomènes que nous venons de décrire il s'agit d'action à distance, le champignon existant dans le voisinage des anthéridies. L'activité mitotique n'est pas suspendue dans les anthéridies dont un ou plusieurs secteurs sont en dégénérescence. Nous avons même rencontré une petite anthéridie dont toutes les cellules étaient vacuolisées, sauf au petit secteur. Dans ce dernier on remarquait des mitoses normales.

Par ses produits de sécrétion le champignon peut provoquer une sorte de cytolysé à distance : ainsi l'on rencontre des anthéridies non mûres, sans mycélium et vidées presque entièrement de leur contenu.

Mais les cellules de la lignée spermatogène ne sont pas les seules à souffrir de la présence du champignon. Très souvent les anthéridies ont leur cellules d'enveloppe complètement vacuolisées. Les cellules ont l'air d'être entièrement vidées, au premier abord, en réalité leur contenu est réduit au noyau fortement aplati et aux chloroplastes dégénérés et moins nombreux qu'à l'ordinaire. Ces derniers, dans l'anthéridie normale, sont gros, bourrés d'amidon et disposés souvent en étoile autour du noyau. Dans l'anthéridie dégéné-

rée, ils sont tassés en petit nombre, au voisinage du noyau, mais appliqués dans une étroite bande de cytoplasme contre la face interne des cellules, par rapport aux cellules spermatogènes.

Nous ne pouvons donner que très peu ou pas du tout de détails sur la cytologie proprement dite des cellules spermatogènes dégénérées par vacuolisation. Les colorations sont parfois très incertaines et tout ce qui concerne les éléments, autres que le noyau et les vacuoles, est très vague. Nous noterons seulement que dans quelques cas plus favorables nous avons vu de très gros plastes dans les cellules hypertrophiées et dégénérant par vacuolisation, ressemblant aux plastes des cellules de l'enveloppe. Il se produirait, en quelque sorte, une différenciation cellulaire, sous l'influence du parasite, tous les éléments étant ramenés au type vulgaire.

Nous avons souvent observé chez *Marchantia polymorpha*, des variations considérables dans la taille des éléments sexuels presque ou complètement mûrs. On a précédemment vu que, sous l'influence du parasite, les gamétocytes revêtaient des aspects variables ; les altérations portant sur le volume et le contenu cellulaire.

Les éléments ainsi modifiés ou ceux qui sont indemnes, semblent résister suffisamment pour arriver dans certains cas aux stades ultimes de spermatide et d'anthérozoïdes.

La question est complexe car il est difficile de préciser si les modifications apportées par le champignon amènent une mort plus ou moins rapide ou permettent une survie de durée variable. Par conséquent, dans l'étude des produits anormaux, il est malaisé de faire le départ entre ce qui descend peut-être des lignées de cellules transformées précocement et ce qui provient de lignées demeurées intactes de l'atteinte du champignon.

En d'autres termes, pour condenser le problème en une seule phrase, il faudrait savoir à quelle époque de la vie de l'anthéridie s'est produite l'infestation ou l'attaque à distance.

Ceci est d'importance. Que doit-on penser, en effet, lorsqu'on trouve des modifications dues au parasite, portant sur des états avancés de l'évolution sexuelle ? Les transformations subies remontent-elles à une action déjà ancienne du parasite ayant porté sur de jeunes cellules ? Ces dernières auraient réagi à l'action du champignon et n'ayant pas perdu la faculté de se diviser, seraient arrivées à maturation en donnant des éléments sexuels cependant plus ou moins transformés. Dans le cas où les cellules auraient perdu la faculté de se diviser, n'ayant pas acquis l'immunité nécessaire, elles involueraient, grossiraient, retournant à l'état fruste précédemment décrit. En poussant à l'extrême, on peut admettre que les cas de dégénérescence et de destruction totale, avec mort brusque par plasmolyse, sont dus à cette « paralysie mitotique » dont sont frappées des cellules incapables de continuer à se diviser selon la cadence normale.

Les cellules continuant à se diviser et s'adaptant aux toxines secrétées par le champignon ou aux diverses modifications produites dans le milieu interne, aboutiraient soit aux formes naines de spermatides (fig. 2, Pl. II) et de spermatozoïdes, soit aux cellules géantes à gros noyaux que l'on rencontre parfois.

Il semble que, plus on se rapproche du terme de l'évolution, plus l'élément sexuel devient résistant, acquérant une certaine immunité avec l'âge. C'est ainsi que l'on peut voir des anthéridies emplies de spermatozoïdes mûrs et obsolument normaux, bourrées de mycélium. Une telle allure d'infestation ayant respecté absolument l'intégrité morphologique des produits sexuels, tout en étant particulièrement violente, autorise à penser que l'action du parasite a été tardive dans ce cas, le champignon ayant pénétré en vain dans l'organe mûr, aux cloisons déficientes et dont les cellules du pédicelle sont en voie de destruction. Tout nous conduit à penser qu'une partie des cellules de la lignée spermatogène possède ou acquiert une immunité au parasite. Cette immu-

nité est variable : lorsqu'elle existe, elle permet aux produits sexuels d'évoluer normalement ou anormalement, après une certaine adaptation, selon les cas.

C'est de ces derniers produits que nous allons parler, puisque la spermatogénèse normale a fait l'objet du chapitre précédent.

Les quelques résultats cytologiques concernant les éléments sexuels tératologiques furent obtenus par l'utilisation des méthodes de fixation au *Regaud* ou au *Picro-Formol pur*.

Regaud, triple de Mallory. — Cette méthode de coloration permet mieux que fuchs. ac. vert. L. de mettre en évidence les quelques détails structuraux visibles des spermatides naines. Ces spermatides naines ont généralement deux μ au lieu de 5, mais leur taille peut descendre jusqu'à la dimension exceptionnellement faible de un μ . Ces spermatides naines ont souvent un aspect irrégulier. Si elles ont parfois la forme triangulaire classique (ce qui permet d'ailleurs de les identifier à coup sûr aux éléments sexuels mâles de l'hépatique), elles peuvent dans certains cas, être plus ou moins globuleuses, cylindriques, discoïdes. Ce dernier aspect rappelant celui d'hématoblastes est assez fréquent. Le corps de la spermatide est coloré en bleu, et l'on distingue, à l'intérieur, un gros élément rouge (fig. 10, Pl. II), très souvent de structure annulaire avec un espace clair, au centre. La position de cet élément fuchsinophile est variable, qu'il se trouve à la périphérie ou au centre, il est difficile de l'interpréter.

Picro formol pur Hématoxyline. — Dans certaines anthéridies observées dans des préparations obtenues par cette méthode, l'on voit que l'attaque et l'infestation ont été si violentes qu'il est pénible, dans l'entrelacis des hyphes et du tissu sexuel parasité, de distinguer les éléments du champignon de ceux de l'Hépatique, si paradoxal que cela puisse sembler.

Néanmoins on peut constater une augmentation de vo-

lume des cellules sexuelles (fig. 22) et dans les anthéridies voisines de la maturité, certains secteurs d'anthérozoïdes modifiés, parmi les anthérozoïdes normaux. Les spermatozoïdes normaux sont déroulés, les spermatozoïdes anormaux sont encore enroulés partiellement ou totalement, le cordon chromatique est plus épais qu'à l'ordinaire et très irrégulier et bossué ; ces anthérozoïdes sont cependant de taille normale.

Dans d'autres anthéridies mûres, ils sont de petite taille, et paraissent correspondre aux spermatides naines décrites

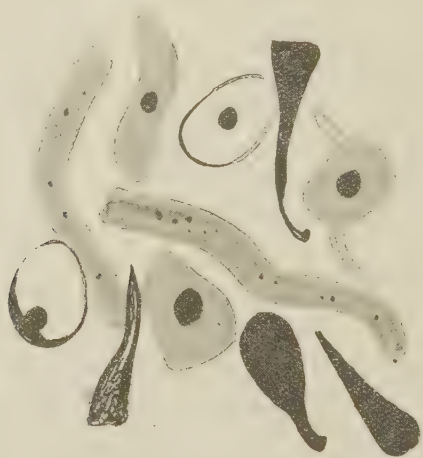


Fig. 22. — *Marchantia polymorpha*. — Spermatides anormales avec filaments mycéliens.

plus haut ; en outre ils ont un aspect bacilliforme ou recroquevillé fortement en virgule.

Les anthérozoïdes mûrs peuvent encore subir d'autres modifications. L'extrémité postérieure du corps est très renflée. C'est là d'ailleurs que siège le noyau et les irrégularités paraissent porter sur son incorporation au filament chromatique : le processus paraît retardé, la masse nucléaire garderait plus longtemps ou plus nettement son individualité, sous l'influence du parasite. Ces anthérozoïdes sont encore deux fois plus petits que normalement. On distingue nettement à l'extrémité renflée, l'existence d'une structure lacu-

naire analogue à celle que nous avons décrite au cours de l'évolution chromatique dans la spermatide. Notons, en passant, que les anthéridies renfermant ces spermatozoïdes anormaux sont toujours plus ou moins aplaties.

Nous avons remarqué, depuis longtemps, que l'on pouvait constater dans les cellules en mitose des variations considérables, allant du simple au double, dans la taille des fuseaux et des figures achromatiques. Ces phénomènes très marqués dans les anaphases et les télophases, étaient assez fréquents dans certaines anthéridies où les cloisons étaient peu visibles et où les cellules de la lignée sexuelle paraissaient plus ou moins libres et indépendantes.

Nous ne sommes d'ailleurs pas le seul à avoir noté cette absence de cloisons (fig. 3, pl. VI), dans certains cas, au cours de la spermatogénèse et P. A. DANGEARD [37] l'a également signalée.

Ces phénomènes semblent anormaux et sont peut-être justiciables de la présence du champignon.

Nous avons rencontré dans un petit nombre de préparations de chapeaux mâles parasités, des faits plus remarquables concernant l'évolution nucléaire. Certaines mitoses très anormales présentaient, en effet, des caractères les rapprochant des mitoses hétérotypiques décrites par de nombreux auteurs et telles qu'on en rencontre au cours des phénomènes de réduction chromatique. Le matériel, en question, était fixé au *Bouin* et coloré, soit à l'hématoxyline soit à la Fuchs. ac. et Vert. L. C'est sur une préparation colorée par cette dernière méthode que nous avons fait les premières observations de ces phénomènes. A un faible grossissement, on distinguait dans une anthéridie, de taille moyenne, un secteur composé de très grosses cellules, comme cela se produit souvent lors des phénomènes de dégénérescence. A notre étonnement, l'observation détaillée au fort grossissement, nous montra que ces cellules 1° n'étaient pas vacuo-

lisées ; 2° ne contenaient pas un noyau de dégénérescence ; 3° possédaient une structure normale ne différant pas celle des cellules ordinaires de la lignée spermatique, que par l'accroissement considérable des volumes cellulaires en général et nucléaires, en particulier.

Les éléments ainsi modifiés avaient de 10 à 15 μ au lieu de 5 et les noyaux, à un stade prophasique, renfermaient de grosses masses chromatiques colorées en bleu ou en rouge selon le cas, au nombre de 2 à 5 et réunies par un réseau assez lâche et moins chromatique (fig. 1, Pl. II). Il était intéressant de comparer ces prophases avec celles qui voisinaient dans le même secteur anthéridien et qui étaient normales.

La figure 23 représente d'autres aspects de prophases hétérotypiques, à des stades divers, avec des masses chromatiques libres ou anastomosées par un réseau filamenteux, présentant dans certains cas, une structure chromomérique. L'aspect de la chromatine, qui a tendance à se condenser, montre qu'on n'est pas loin du stade dit de *Synizesis* : Ce dernier est représenté par les fig. 5, 7 et 8 [23] où l'on voit disparaître le réseau chromatique et la chromatine s'affaïsser plus ou moins contre la membrane nucléaire. Certains aspects peuvent être assimilés à des stades leptotènes. Il est bien entendu que nous nous servons de ces termes uniquement à titre de comparaison pour signaler la ressemblance de ces mitoses anormales de noyaux géants avec les phénomènes de cinèse hétérotypique. Y a-t-il vraiment, dans ce cas, des phénomènes de réduction chromatique ? Seul l'examen systématique d'un très grand nombre de cas pourrait permettre de le dire. Or ces phénomènes sont assez rares et bien des stades de l'évolution de cette lignée spéciale de cellules nous ont manqué.

On sait que depuis HERTWIG (1), de nombreux auteurs tels que KINGSBURY, HIRSCH, ont considéré les phénomènes

1. Cet auteur et les suivants sauf KEMP sont cités d'après SHARP (138 bis).

hétérotypiques comme étant souvent synonymes de dégénérescence et de mitoses abortives.

WODSEDALEK, KINGERY, MARCUS, NEMEC, KEMP, etc. observèrent des mitoses hétérotypiques dues à des phénomènes de dégénérescence spontanés ou attribuables à l'expérimentation.

KEMP, par exemple, a observé chez *Galtonia* deux noyaux

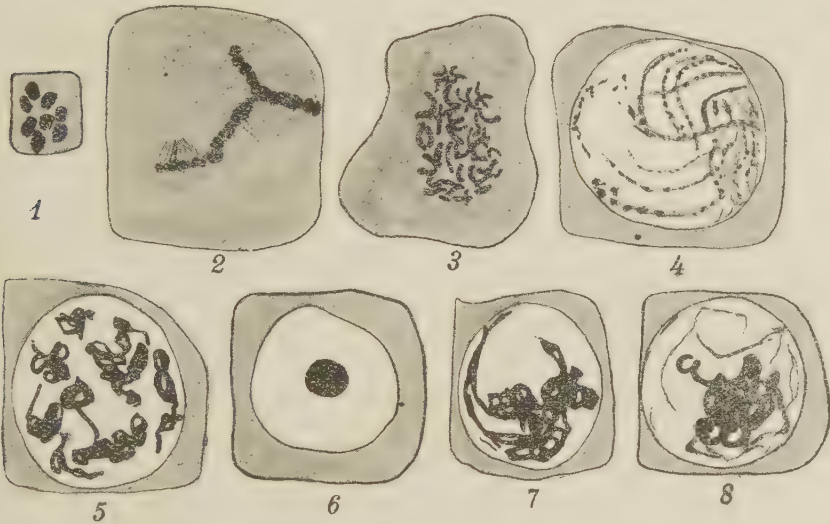


Fig. 23. — *Marchantia polymorpha* : Bouin hématoxyline.

Action d'un champignon parasite sur la gamétogénèse.

Cellules spermatidogènes anormales.

1, Cellule spermatidogène normale de 5 μ . Remarquer les chromosomes globuleux (comparer cet aspect avec celui des figures 17, 18, 19, 20 et 29, pl. IV).

2, Fuseau multiple

3, Polyploidie. On peut compter une trentaine de chromosomes (chiffre normal : 8).

4, Aspect assimilable à une « Synapsis ».

6, Noyau de cellule géante au repos.

5, 7, 8, Aspect comparable à la « Synizesis ».

par cellule ou un seul de volume double et ces modifications sont dues à l'action de l'hydrate de Chloral.

Aux cas déjà connus de doublement de chromosomes, nous ajouterons l'observation personnelle de l'apparition de noyaux diploïdes dans la lignée sexuelle de génération haploïde.

Nous avons observé, en effet, quelques métaphases des

noyaux géants : (fig. 23 du texte et fig. 1, pl. VI) ; les fuseaux sont striés de fibres achromatiques nettes, et fortement tronqués aux extrémités. On ne distingue, aux pôles, aucune structure assimilable aux corps centraux. Il est certes impossible de compter les chromosomes dans ces métaphases vues de profil, mais dès cet examen, on peut affirmer qu'il y a, dans ces plaques équatoriales augmentation de la masse de chromatine. Dans plusieurs plaques équatoriales observées de face nous avons observé un nombre de chromosomes anormal qui nous a paru être voisin de 16 dans certains cas, ce qui indique un doublement par rapport au gamétophyte (1). Les fuseaux sont parfois groupés par quatre, un des pôles de chaque fuseau convergeant vers le même point.

KEMP [81] a observé de semblables associations de fuseaux. Ceci semblerait indiquer qu'il peut y avoir un moment dans l'évolution de cette lignée cellulaire anormale, où les éléments sont plurinucléés. En ce cas, il y aurait aussi un stade de réduction chromatique que nous n'avons d'ailleurs jamais observé à proprement parler, comme nous l'avons dit plus haut.

On sait que les cellules sexuelles mâles sont susceptibles de présenter des variations de taille. Nous signalerons, par exemple, les observations de MONTGOMERY et de BOWEN au cours de la spermatogénèse des insectes, où ces modifications se produisent spontanément. On a montré l'existence de générations de spermatocytes et de spermatozoïdes différant par la taille.

Chez *Marchantia*, il existe aussi des lignées différentes d'éléments sexuels mâles différant 1° par leur résistance au parasitisme 2° par l'aspect même des produits sexuels mûrs ayant subi des influences pathogènes.

Il eut été nécessaire pour résoudre entièrement ces importants problèmes, d'aborder la question du point de vue

1. Dans certains cas nous avons compté jusqu'à 30 chromosomes Voir : 3 fig. 23 du texte.

expérimental, c'est-à-dire d'identifier le parasite rencontré dans les chapeaux avec celui qui se trouve dans le thalle et d'étudier l'action des champignons sur les cellules sexuelles.

Nous nous proposons, d'ailleurs, d'établir ultérieurement l'action des facteurs physiques et chimiques sur la spermatogénèse, afin de tenter d'expliquer les nombreuses anomalies que nous avons rencontrées dans les phénomènes caryocinétiques ou dans ceux qui précèdent la maturation des spermatozoïdes.

C'est peut-être en grande partie, l'observation de phénomènes anormaux qui a été la cause des divergences nombreuses d'opinion entre les divers auteurs. Ainsi que nous l'avons dit dans notre préface, on peut rencontrer dans ces tissus extrêmement sensibles aux influences externes de toutes sortes, des variations considérables.

Dans certains chapeaux bouleversés par l'action d'un champignon ou d'un hiver extrêmement rigoureux (hiver 1929), nous avons eu l'impression, si l'on peut s'exprimer ainsi, *que l'anomalie et la tératogénèse étaient souvent la règle*. ALLEN [1], puis beaucoup plus tard, GUILLIERMOND [71] ont sévèrement critiqué WILSON [150]. Certes, les figures de cet auteur sont extraordinaires, mais faut-il nier la réalité de tous les aspects observés par Wilson ? C'est peut-être un point de vue téméraire. Et d'ailleurs, les figures d'ALLEN, et celles de WALKER [148] concernant l'extrusion de chromatine, sont-elles vraiment plus claires, et les phénomènes qu'elles représentent, moins complexes ?

Il y a, d'ailleurs, dans le mémoire de WILSON (fig. 24) un passage qui nous fait penser que son auteur a pu fréquemment se trouver en présence de phénomènes pathologiques.

Il a trait à l'observation, après IKENO, de spermatides doubles. Nous citons : « These spermatids were approximately double the normal size, and very probably contain two nuclei, although in consequence of the difficulty in staining the outlines of these bodies could not be clearly distinguish-

shed. Two limospheres, two blepharoplasts, and two thread-like structures could however be seen in each. »



Fig. 24. — Reproduction d'une spermatide double de *Mnium hornum* d'après Wilson : fig. 34.

Cette observation des spermatides binucléées est à retenir, étant donné que nous avons nous-même trouvé des cellules spermatidogènes géantes chez *Marchantia* et des spermatides de taille supérieure à la moyenne qui présentaient des structures anormales dont nous n'avons pu établir la signification (fig. 12 pl. V).

En terminant nous insisterons quelque peu sur certains faits relevés dans la bibliographie et laissés jusqu'à présent sous silence ; nous croyons, étant donné ce que nous avons observé, qu'il est intéressant de les rappeler et de les tirer de l'oubli car ils sont susceptibles d'aider, plus tard, à construire des hypothèses de travail.

Ces phénomènes d'hyperplasie rencontrés dans les chapeaux mâles de *Marchantia* sont d'autant plus intéressants que des observations déjà anciennes ont relaté, dans cette espèce, toutes sortes d'aberrations intéressantes et notamment de curieux cas d'hermaphroditisme. Elles ont trait à certains chapeaux mâles possédant des archégones plus ou moins bien développés. C'est TAYLOR qui a découvert des phénomènes d'hermaphroditisme ; il s'agissait de *Dumortieria irrigua*. Plus tard, GOEBEL, LEITGEB, Miss TOWNSEND (Voir Cutting pour la bibliographie du sujet), étudièrent à ce point de vue *Preissia commutata*. Chez *Marchantia paleacea*, qui diffère fort peu de *M. polymorpha*, CUTTING [28] a retrouvé des faits analogues. Ses figures 1 et 2 montrent des chapeaux mâles dans lesquels un rayon d'anthéridie est remplacé par des archégones. La transformation n'est pas seulement visible sur les coupes (fig. 3), mais encore macroscopiquement, car le réceptacle possède un aspect hybride présentant partiellement les caractères du chapeau mâle et

partiellement ceux du chapeau femelle. Le mémoire ne renferme malheureusement aucun détail cytologique, bien que datant de 1910.

A quoi sont dues ces variations de sexe ? Telle est néanmoins l'importante question que s'est posé CUTTING.

L'auteur s'est demandé, si elles sont le fait de facteurs internes ou externes. Etant donné ce que nous savons de la présence d'un champignon parasite dans les chapeaux mâles et de l'action morphogénique qu'il peut exercer sur les tissus sexuels, il est permis de suggérer à titre d'hypothèse la possibilité d'un rapport entre les phénomènes de parasitisme et d'hermaphroditisme. Si d'ailleurs ce fait venait un jour à être connu il rentrerait automatiquement dans la catégorie de phénomènes analogues déjà mis en évidence en Biologie générale.

L'apparition dans les cellules géantes de mitoses rappelant les phénomènes réductionnels ne font-ils pas penser à des phénomènes d'autogamie fruste dont les anthéridies parasitées seraient le siège ?

Nous arrêterons là cette série de points d'interrogation qui ouvrent des horizons séduisants à des recherches futures, pour résumer et conclure brièvement sur les résultats que nous avons obtenus, dans nos recherches, sur l'action du champignon endophyte parasite des anthéridies du *Marchantia polymorpha*.

RÉSUMÉ DES PRINCIPAUX TYPES D'ALTÉRATION DES ÉLÉMENTS SEXUELS ♂

1^{er} type :

Dégénérescence du noyau.

Perte de la faculté de division.

Retour involutif de cellules sexuelles différenciées à un type fruste.

Abaissement du rapport nucléoplasmatique.
Ceci réalise le 1^{er} type d'adaptation au parasitisme.

2^e type :

Hyperplasie considérable.
Doublement des chromosomes dans certains cas.
Conservation à la cellule d'une structure normale.
Conservation du rapport nucléoplasmatique.
Ceci réalise le second type d'adaptation au parasitisme.

3^e type :

Altération totale et sans doute brusque de la cellule sexuelle, suivie de mort.
Hypo ou hyper chromophilie insolite, plasmolyse.
Cytolyse, mort.
Il n'y a pas d'adaptation au parasitisme.

4^e type :

Modifications des éléments sexuels mûrs.
Spermatides et spermatozoïdes nains et modifiés.
Ceci est le 3^e type d'adaptation des cellules sexuelles au parasitisme.

Tels sont ces phénomènes de spermatogénèse tératologique dont la description constituait la dernière partie de notre travail.

Nous espérons que cet ensemble de faits encore épars contribueront dans une certaine mesure à nous donner un jour un peu plus de lumière sur la signification des phénomènes sexuels, au double point de vue de leur ontogénie et de leur phylogénie.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons apporté dans ce travail, une contribution originale concernant plusieurs points de la Biologie générale des Hépatiques. Nous résumerons succinctement de la façon suivante l'essentiel de nos recherches.

1° *Ergastome.* — Nous avons assimilé l'ensemble des substances réfringentes osmiophiles des Hépatiques à un système nommé ergastome comprenant deux parties : l'une active, mobile, indifférenciée, jouant le rôle de réserve, existant de façon permanente dans les tissus, l'autre immobile différenciée, non permanente, correspondant aux « oléocorps » des auteurs. Entre ces deux parties de l'ergastome il existe une relation trophique ; l'ergastome mobile contribuant à constituer l'ergastome différencié. En outre, nous avons établi que si l'ergastome différencié naissait dans le cytoplasme, il y avait généralement, au début de l'évolution, un contact très étroit avec le vacuome.

2° *Indépendance du plastidome.* — Dans les cellules de la lignée spermatique, ainsi que dans les jeunes rhizoïdes, les poils tecteurs, les papilles à mucilage, il n'y a pas transformation du plastidome en chondriome homogène.

3° *Phénomènes de cariocynèse dans les tissus spermatogènes.* — Nous avons montré que la structure nucléaire des tissus spermatogènes était normale (réseau chromatique, nucléole), que les phénomènes de cinèse se faisaient selon le mode courant et qu'il n'y avait pas, jusqu'à la dernière mitose exclusivement, participation de corps centraux.

Nous avons montré qu'il existait indubitablement des corps centraux présidant à la dernière mitose.

4° *Structure de la spermatide et du spermatozoïde.* — La spermatide de *Marchantia* et celle de *Fegatella* possèdent une structure cellulaire normale où se retrouvent tous les éléments : vacuome, plastidome, cytome, noyau nucléolé, ergastome mobile. La spermatide possède, en outre, des structures particulières : 1° un blépharoplaste, structure autonome ne dépendant pas du chondriome et dérivant vraisemblablement de l'appareil centrosomien.

2° Une pièce moyenne jouant un rôle actif dans la formation du filament spermial.

Le spermatozoïde mûr renferme un noyau normal, un blépharoplaste ou centrosome, et peut être un plaste représenté par une lacune chromophile visible à sa partie postérieure.

5° *Action des champignons endophytes sur la biologie des Hépatiques.* — Nous avons rencontré un champignon parasitant les appareils fructifères mâles de *Marchantia polymorpha* que nous avons pu isoler et cultiver. Nos observations ne nous permettent pas de souscrire à la théorie générale de la symbiose des champignons endophytes chez les Hépatiques.

Le champignon présent chez *Marchantia polymorpha* se comporte, d'après nous, comme un parasite. Dans certains cas, il provoque une castration parasitaire partielle des éléments mâles ; dans d'autres cas il agit avec des modalités, que nous avons décrites sur la gamétogénèse qui est plus ou moins profondément modifiée. Il nous a été possible d'amorcer une étude de spermatogénèse tératologique.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLEN (Ch.). — The spermatogenesis of *Polytricum juniperinum* (*Ann. of Bot.*, t. XXXI, p. 269, 293, 1917).
2. ALLISTER (MC.). — The Pyrenoid of *Anthoceros*.
3. ARENS. — Zur Spermatogenese der Laubmoose (Inaugural Dissert, Bonn., 1907).
4. ARNOLD (J.). — Ueber plasmastrukturen und ihre funktionelle Bedeutung. Gustav Fischer. Iéna, 1914.
5. BAGCHEE (K.). — The spermatogenesis of *Anthoceros laevis* (*Ann. of Bot.*, t. XXXVIII, p. 105-111, 1924).
6. BEAUVERIE (J.). — Etude d'une hépatique à thalle habitée par un champignon filamenteux (*C. R. Ac. des Sc.*, p. 646, 1902).
— Quelques aspects de la "dégénérescence des plastes. Applications au parasitisme (*Rev. gén. de Bot.*, vol. 40, p. 206, 1928).
- 7 bis. BEER. — On elaioplasts (*Ann. of Bot.*, t. XXIII, p. 63-72, 1909 a).
- 7 ter. BLARINGHEM. — (1) Caractères utilisés pour la classification des phanérogames et des cryptogames vasculaires. Paris. Guillon, 1930. Cours professé à la Faculté des Sciences.
8. BELAJEFF (W. L.). — Ueber Bau und Entwicklung der spermatozoiden der Pflanzen (*Flora Ergänzungsband*, t. LXXIX, p. 1-48, 1894).
9. BERGDOLT (E.). — Bot. Abhandl. Heft 10, 1962. Cité d'après Voyciski. Titre d'ouvrage non indiqué (Oléocorps des hépatiques).
10. BLACK (C. A.). — The morphology of *Riccia Frostii* (*Ann. of Bot.* vol. 1913).
11. BOLLETER. — *Fegatella conica* Corda. Eine morphologisch-physiologisch Monographie (*Beiheft. z. bot. Centralbl.*, Bd. XVIII, 1905).
12. BOULAY (Abbé). — Muscinées de la France. 2^e partie. Hépatiques. Paris, 1904.
13. BOWEN (Rh.). — Studies in the structure of plant Protoplasme I. The osmiophilic platelets (Sonderabdruck aus Zeits. f. Zellf., etc. 6 Bd).

14. — Notes on the occurrence of abnormal mitoses in spermatogenesis (*Biol. Bull.*, vol. XLIII, n° 3, sept. 1922).
15. — Studies on insect spermatogenesis. IV. The phenomenon of polymegaly in the sperm-cells of family pentatomidae (Proceed. of the Amer. Ac. of S. and AV. 57, n° 16, nov. 1922).
16. — Studies on insect spermatogenesis. II. The components of the spermatid and their role in the formation of the sperm in hemiptera (*Journ. of Morphology*, vol. 37, n° 1, déc. 1922).
17. — Studies on plant protoplasm II. Plastidom. and Pseudochondriome. Sonderabdruck aus Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskop (Anat. 9 Bd. I Heft. Ab., mai 1929).
18. — Notes on the chondriosomes like bodies in the cytopl. of *Equisetum* (*Ann. of Bot.*, vol. XLIII, 1929).
19. BRACHET (A.). — Traité d'embryologie des vertébrés. Masson. Paris, 1921.
20. BUSCALIONI. — Sui lipoidi nei chloroplasti (*Boll. dell. Ac. Gien. di Sc. Nat.* In Catania, 1912).
21. — Sui lipoidi nei plastidi del fusti (*Ibidem*, 1912).
22. CAVERS. — On asexual reproduction and reproduction in Hepaticae (*The New Phytologist*, 1903, vol. 2, n° 6 u. 7).
23. CHADEFAUD (M.). — Contribution à l'étude de quelques éléments morphologiques des cellules chez les algues de mer (*Le Botaniste*, XVIII^e série).
24. CHALAUD (G.). — Le cycle évolutif de *Fossombronina pusilla* Dum. Thèse Paris (*Rev. Gén. de Bot.*; t. 41, 1928).
- 24 bis. — Les derniers stades de la spermatogénèse chez les Hépatiques (*Annales Bryologiques*, vol. III, The Hague. Martinus Nijhoff, 1930).
25. CHAMBERLAIN (Ch. J.). — Methods in plants Histology, 2^e éd. Chicago, 1905.
26. COMBES (R.). — La vie de la cellule végétale. Collection Armand Colin. Paris, 1927.
27. CORNER (E. J. H.). — A humariaceous fungus parasitic on a liverwort (*Ann. of Bot.*, vol. XLIII, 1929).
28. CUTTING (E. M.). — On Androgynous receptacles in Marchantia (*Ann. of Bot.*, vol. XXIV, 1910).
29. DANGEARD (P. A.). — Mémoire sur les Chlamydomonadinées (*Le Botaniste*, 6^e série, p. 65-290, 1896).
30. — Etudes sur la structure de la cellule (*Le Botaniste*, 8^e série, 1902, p. 5 à 58).
31. — La métachromatine chez les algues et les champignons (*Bull. soc. bot. de France*, t. 63, 1916).
32. — Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome,

- plastidome et sphérome (C. R. Ac. des Sc., vol. 169, p. 1005, 1919).
33. — Vacuome, plastidome et sphérome dans l'*Asparagus verticillatus* (C. R. Ac. des Sc., 1920).
34. — Plastidome, vacuome et sphérome dans *Selaginella Krausiana* (C. R. Ac. des Sc., p. 301, 1920).
35. — La structure des Vauchéries dans ses rapports avec la terminologie nouvelles des éléments cellulaires (*Cellule*, vol. XXXV, 1924).
36. — Sur la reproduction sexuelle chez le *Marchantia polymorpha* dans ses rapports avec la structure cellulaire (C. R. Ac. des Sc., CLXXVIII, p. 267-271, 1924).
37. — Notes de vacances sur les organismes inférieurs et la question du Vacuome (*Le Botaniste*, série XXI, fasc. V-VI, déc. 1929).
38. DANGEARD (Pierre). — Recherches de Biologie cellulaire (Evolution du syst. vacuolaire chez les végétaux. Thèse Paris (*Le Botaniste*, série XV, 1923).
39. — Plastides et cytosomes chez les *Fontinalis antipyretica* (*Bull. Soc. Bot. de France*, LXXII, p. 5-8, 1925).
40. — Observations cytologiques sur les poils foliaires à forme de paraphyses des polytrics (*Bull. Soc. Bot. de France*, t. LXXII, p. 125-130, 1925).
- 40 bis. DANILOV (A. M.). — Vuedenie v sintiez lichaïnika *Leptogium Issatschenkoï. Elenk.* (*Bull. Jardin Bot. Principal.* (Russie), t. XXVIII, fasc. 3 et 4, p. 225-264. Petrograd, 1929).
41. DAVIS. — Nuclear studies on *Pellia* (*Ann. of Bot.*, vol. XV, p. 147).
- 41 bis. DAVY DE VIRVILLE (Ad.). — Action du milieu sur les Mousses (*Rev. Gén. de Bot.*, t. 39, 1928 et 40, 1929).
42. DELLA-VALLE. — L'organizzazione della cromatina studiata mediante il numero dei cromosomi (*Arch. Zool.*, vol. IV, 1909).
43. — La continuità delle forme di divisione nucleare e il valore morfologico dei cromosomi, 1911.
44. — La morfologia della cromatina dal punto di vista fisico (*Archivio Zoologico*, vol. VI, p. 37, 1912).
45. DENIS (M.). — Sur quelques thalles d'*Aneura* spécialement dépourvus de chlorophylle (C. R. Ac. des Sc., p. 64, 1919).
46. DOMBRAY (P.). — Contribution à l'étude des corps oléiformes des Hépatiques des environs de Nancy. Thèse Paris, 1926.
47. DOP et GAUTIE. — Manuel de Technique botanique, 2^e éd. Paris, 1928.
48. DOUIN (R.). — Recherches sur les Marchantiées. Thèse Paris, 1920.
- 48 bis. DOUIN (R.) et DAVY DE VIRVILLE (Ad.). — Action du Milieu sur le *Fegatella conica* (*Rev. Gén. de Bot.*, t. 36, 1924).

49. EMBERGER (L.). — Nouvelles recherches sur la chondriome de la cellule végétale (*R. Gén. de Bot.*, t. XXXIV, p. 341, etc. Paris, 1927).
50. ENTZ (G.). — Über die mitotische Teilung von *Polytoma uvella* (*Arch. f. Protistenk.*, 38, 324-354, 1918).
51. ESCOYEZ. — Blepharoplaste et centrosome dans la *Marchantia polymorpha*. *La Cellule*, t. XXIV, p. 247-256, 1907).
52. FARMER. — On the occurrence of centrospheres in *Pellia epiphylla* (*Ann. of Bot.*, t. VIII, p. 219, 1894).
53. — Spore formation and Karyokinesis in the hepaticae (*Ann. of Bot.*, IX, p. 3037, 1895).
54. — On spore formation and nuclear division in the hepaticae (*Ib. idem*, p. 469-523, 1895).
55. — Further investigations on spore formation in *Fegatella conica* (*Ann. of Bot.*, vol. IX, p. 666, 1895).
56. FAURE-FRÉMIET. — La cinétique du développement (Multiplication cellulaire et croissance). Les Presses Universitaires de France, 1925.
57. GALLAUD (Is.). — Etudes sur les mycorhizes endotrophes. Thèse Paris, série A, n° 484, n° ordre : 1193, 1904.
58. GARGEANNE. — Die Olkörper der Jungermanniales. *Flora* 1903. 92 Bd., p. 457-482.
59. — Über die Mycorrhiza der Lebermoose (*Beih. Bot. Centr.* Bd. 15, 1903).
60. GAVAUDAN. — Sur l'origine et les caractères des éléments oléifères des jungermanniales (*C. R. Ac. Sc.*, t. 184, p. 1473, 1927).
- 61 a. — Sur les rapports du vacuome et du système oléifère des Jungermanniacées (*C. R. Ac. Sc.*, t. 186, p. 163, 1928).
- 61 b. — Sur la présence du système oléifère dans les organes de multiplication des Jungermanniacées (*C. R. Ac. Sc.*, 186, p. 886, 1928).
- 61 c. — Sur la présence d'un champignon parasite dans les anthéridies de *Marchantia polymorpha* et son action sur la gamétogénèse (*C. R. Ac. Sc.*, t. 187, p. 995, 1928).
62. GOEBEL (K.). — Morphologische und Biologische Studien. IV. Ueber Javanische Lebermoose. I *Treubia* (*Ann. Jard. Bot. de Buitenzorg*, vol. IX, 1891).
63. GOLENKIN. — Die Mycorrhiza ähnlichen Bildungen der Marchantiaceen. *Flora* 1902. Bd. 90, p. 29-229, 1902.
- 63 bis. GRAHAM. — Nuclear studies in *Preissia commutata* (*Ann. of Bot.*, 1913, t. XXVII).
64. GRASSE. (P.). — Contribution à l'étude des Flagellés parasites. Thèse Paris, 1926, série A, n° 1076, n° ordre 1920 in *Archives de Zoolog. Exper.*, 1926.

65. GRUN (C.). — Monographische Studien an *Treubia insignis* Goebel
Festschrift zur Eröffnung des neuen Instituts für allgemeine Bot. an d. Univ. Zürich. G. Fischer. Iéna, 1914.
66. GUIGNARD. — Développement et constitution des anthérozoïdes.
II Muscinées (*R. G. de Bot.*, t. I, p. 63, 1889).
67. GUILLIERMOND. — Observations vitales sur le chondriome des végétaux (*Rev. Gén. de Bot.*, t. 31, 1919).
68. — A propos de la constitution morphologique du cytoplasme.
(C. R. Ac. des Sc., t. CLXXII, p. 121, 1921; *id. loc.* : p. 1676. Sur les microronées et les lipoides de la cellule végétale.
69. — Sur l'origine et la signification des oléoplastes (C. R. Soc. Biol., LXXXVI, n° 8, p. 437, 1922).
70. GUILLIERMOND et MANGENOT. — Observations cytologiques sur le mode de formation des essences dans les
(C. R. Ac. des Sc., p. 600, 1923).
71. — Revue générale des travaux de cytologie parus de 1910 à 1925 (*Rev. Gén. de Bot.*, t. XXXVIII et XXXIX, 1926-1927).
72. GUILLIERMOND. — Quelques remarques sur l'appareil de Golgi et les méthodes employées pour sa différenciation (*Arch. d'Anat. microsc.*, LXXV, p. 492-506, 1929).
73. HIRASE. — Notes on the attractions sphères in the Pollen cells of *Ginkgo biloba*. Bot. Mag. Tokyo, vol. VIII, p. 359, 1894.
74. HUMPHREY. — The developpement of *Fossombronina longiseta* (*Ann. of Bot.*, t. XX, p. 83-107, 1906).
75. HUSNOT. — Hépatologia Gallica (Flore analytique et descriptive des Hépatiques de France et des contrées voisines). Cahan par Athis. Orne, 1922.
76. IKENO. — Beiträge zur Kenntnis der pflanzlichen Spermatogenese : die Spermatogenese von *Marchantia polymorpha* (*Beih. z. Centralb.*, t. XV, p. 65-88, 1903).
77. — Blepharoplasten in Pflanzenreich (*Biol. Centralb.*, t. XXIV, p. 211, 1904).
78. — Are the centrosomes in the antheridial cells of *Marchantia polymorpha* imaginary? Bot. Mag. Tokyo, vol. XIX, 1905.
79. — Zur Frage nach der Homologie der Blepharoplasten. Flora, t. XCVI, p. 538-542, 1906.
80. KARBUSH (S.). — Recherches cytologiques sur la résist. des céréales à la rouille jaune. Thèse Paris, 1926.
81. KEMP. — On the question of the occurrence of Heterotypic reductions in somatic cells (*Ann. of Bot.*, vol. XXXIV, p. 775, 1910).

- 81 bis. KILLIAN. — Cultures d'Hépatiques (C. R. soc. Biol., t. LXXXVIII, 1923, et XCI, 1924).
82. KIN (Chou-Tchang). — Recherches cytologiques sur la famille des Péronosporées. Thèse Paris. in *Le Botaniste*, 1929.
83. KOZLOWSKY (A.). — Sur l'origine des oléoleucites chez les hépatiques à feuilles (C. R. Ac. Sc., p. 497-499).
84. KUHNER (R.). — Contribution à l'étude des Hyménomycètes et spécialement des agaricacées. Thèse Paris.
85. KUSTER (Von.). — Die Olkörper der Lebermoose und ihr Verhältniss zu den elaioplasten. Diss. Basel, 1894 (Cité d'après P. Dombray).
86. KYLIN (H.). — Über den Bau der Spermatozoiden der Fucaceen (*Ber. Bot. Gesell.*, t. XXXIV, 1916).
- 86 bis. — *Ber. Bot. Gesell.*, t. XXXVIII, 74-78.
87. LANGERON. — Traité de microscopie. Masson. Paris.
88. LECLERC DU SABLON. — Recherches sur le développement du sporogone des Hépatiques (*Ann. des Sc. Nat. Bot.*, p. 126-180, 1885).
89. — Sur la formation des anthérozoïdes chez les Hépatiques (C. R. des Sc., t. CVI, p. 876-877, 1888).
- 89 bis. LEEUWEN-REIJNVAAN (W. et J.). — Ueber eine zweifache reduction bei der Bildung der Geschlechtszellen und darauf folgende Befruchtung mittels zwei Spermatozoiden, und über die Individualität der Chromosomen bei einigen Polytichum-arten. Extr. du rec. des Trav. Bot. Néerla., vol. IV, p. 1-14, 1907.
- 89 ter. — Ueber die Spermatogénese der Moose speziell mit Berücksichtigung der Zentrosomen und Reduktionsteilungsfragen (*Ber d. d. Bot. Gesell.* Bd. XXVI a, 1908).
90. LEITGEB. — Untersuchungen über die Lebermoosen. H. VI, 1881.
- 90 bis. LESAGE (P.). — Cultures expérimentales de *Fegatella conica* et quelques autres muscinées (C. R. Ac. des Sc., 1921, p. 1521-1523).
91. LEWIS. — The embryology and development of *Riccia lutescens* and *Riccia crystallina* (*Bot. Gaz.*, t. XLI, p. 109, etc. (cité d'après : Ikeno, 1906. Wilson, 1914, Chalaud, 1928), 1906).
92. LILLIE (R. S.). — *Amer. Journ. Physiol.*, t. VII, p. 412, 1902.
93. LITARDIÈRE (R. de). — Recherches sur l'élément chromosomique dans la caryocinèse somatique chez les filicinées (*La Cellule*, t. XXXI, fasc. II, p. 255-476, cité d'après Guillermond, 1920).
- 93 bis. LOHMAN. — Beitrag zur Chemie und Biologie der Lebermoose (Beihefte zum botanischen Centralbl., 1903, Bd. XV, p. 215-216).

94. MAGROU (J.). — La Symbiose chez les Hépatiques : Le « Peltia epiphylla » et son champignon commensal (*Ann. des Sc. Nat. Bot.*, 1925).
95. — La symbiose chez les plantes supérieures (*Rev. Gen. de Bot.*, vol. 40, p. 252, 1928).
- 95 bis. MANGENOT (G.). — La structure des anthérozoïdes des Fucales (C. R. Ac. des Sc., t. CLXXII, 1924, p. 1198-1200).
96. — Données morphologiques sur la matière vivante. Paris, 1930.
97. MARTENS (P.). — Recherches expérimentales sur la cinèse dans la cellule vivante (*La Cellule*, t. XXXVIII, 1^{er} fasc., 1927).
98. — Les structures nucléaires et chromosomiques dans la cellule vivante et la cellule fixée. *Bull. d'Histologie appliq. à la Physiol. et la Pathol.*, t. V, 5^e ann., n^o 6, juin 1928).
99. — Nouvelles recherches expérimentales sur la cinèse dans la cellule vivante (*La Cellule*, t. XXXIX, fasc. 2, 1929).
100. MEYER. — Das während des Assimilationsprozesses in den Kloroplasten entstehende Secret (*Ber. d. d. Bot. Ges.* 1917 a, *Ib.*, 1917 b., 1918).
101. MEVES (S. F.). — Zur Kenntniss des Baues pflanzlicher Spermien. (*Arch. für mikrosk. Anat.*, t. XCI, p. 272, 1918).
102. MIRANDE (M.). — Sur les organites élaborateurs particuliers (stérinoplastes) de l'épiderme des écailles de bulbes de Lis blanc (C. R. Ac. des Sc., t. CLXXXVI, 1923, p. 327).
103. — Sur la nature protéolipoidique des stérinoplastes du Lis blanc (*Id. loc.*, p. 596).
104. — Sur la nature de la sécrétion des stérinoplastes du Lis blanc (*Id. loc.*, p. 769).
105. MIRBEL. — Recherches anatomiques sur le Marchantia polymorpha (Mémoire à l'Académie des Sciences. Paris, 1833).
106. MICHEL DURAND. — Recherches sur les composés tanniques (*Revue Générale de Bot.*, t. 40, 1928-1929).
- 106 bis. MIYAKE (K.). — On the centrosome of the Hepaticae (*Bot. Magaz.*, t. XIX, 1905, d'après Wilson, 1911).
107. MOREAU (M. et M^{me}). — Etude des phénomènes sécrétoires dans les glandes à « Lupuline » chez le Houblon cultivé (*Rev. Gén. de Bot.*, t. 34, p. 193 à 201, 1922).
108. MOTTE (J.). — Contribution à la connaissance cytologique des Muscinées. Thèse Paris, 1928 (In *Ann. des Sc. Nat. Bot.*, X^e série, t. X, p. 293-534).
109. MOTTIER (D. M.). — Chondriosomes and the primordia of Chloroplasts and Leucoplasts, 1918.
110. NEMEC. — Ueber Die Mycorrhiza einiger Lebermoose (*Ber. d. Deut. Bot. Ges.*, t. XVII, p. 311, n^o 8, 1899).
111. — Ueber die Mycorrhiza bei Calypogeia trichomanis (*Beih. Z. Bot. Centralb.*, t. XVI, 1904).

112. NICOLAS (G.). — Formations mycorhiziques dans une Hépatique à thalle (*Lunularia cruciata* Mich.) (C. R. Ac. Sc., t. CLXXVIII, 1924).
- 112 bis. — Sur la biologie de quelques Bryophytes (*Rev. Gén. de Bot.*, t. 38, 1926, p. 43-57).
- 112 ter. NOEL-BERNARD. — L'évolution dans la symbiose. Les Orchidées et leurs champignons commensaux (*Ann. de Sc. Nat. Bot.*, 9^e sér., t. IX, 1909).
113. NOEL (R.) et MANGENOT (G.). — Le formol fixateur nucléaire (C. R. Soc. Biol., 87).
114. PANDE (S. K.). — Notes on the morphology and biology of *Riccia sanguinea* Kash (*Journal of Indian Bot. Soc.*, Aug. 1924).
115. PARAT (M.). — Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme de la cellule animale. Thèse Paris, 1928, Série A, n^o 1172, n^o Ordre 2036.
116. PEKLO (J.). — Ueber die Mycorrhiza bei Muscineen (*Bull. inter. de l'Ac. de Sc. Bohème*, 22 pp., 1903).
117. — Beiträge zur Lösung des Mycorrhiza-Problems (*Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.*, 1909, Bd. XXVII).
118. PFEFFER (W.). — Die Oelkörper der Lebermoose. *Flora*, t. LVII, 1874.
- 118 bis. POLITIS. — Sugli elaioplasti nelle Mono e Dicotiledone (*Attr. r. Ac. Lincei. Roma*, 1911).
119. — Du rôle du chondriome dans la formation des essences dans les plantes (C. R. Ac. des Sc., p. 98-100, 1921).
120. POPOVICI (H.). — Sur la formation des essences (C. R. Ac. des Sc., t. CLXXXI, p. 127, 1925).
121. — Contribution à l'étude des laticifères (*Ib.*, t. CLXXXIII, p. 143, 1926).
122. — Quelques remarques sur les oléoplastes des Hépatiques (*Ib.*, p. 77, 1927).
123. RACIBORSKY. — Ueber d. Entwicklungeschichte der Elaioplasten der Liliacene (*Anzeiger d. Akad. d. Wissensch. in Krakau.*, p. 259, cité d'après P. Dombray).
124. REED (G. B.). — The rôle of Oxydases in Respiration (*The Journal of Biological Chemistry*, vol. XXII, n^o 1, 1915).
- 124 bis. RICHARD (Joseph). — Sur les antérozoïdes des *Fucus* (C. R. Ac. des Sc., 1929, t. 188, p. 875-877).
- 124 ter. — Sur le contenu cellulaire des *Fucus* (*Rev. Gén. de Bot.*, XLI, 1929).
125. RICKETT (H. W.). — Fertilization in *Sphaerocarpos* (*Ann. of Bot.*, t. XXXVII, p. 255-259, 1923).
126. RIDLER. — The fungus present in *Pellia epiphilla* (*Ann. of Bot.*, t. XXXVI, p. 199, 1922).

127. — Further observations on the fungus present in *Pellia epiphylla* (*Ann. of Bot.*, t. XXXVII, 1923).
128. — The fungus present in *Lunularia cruciata* (*Transact. British mycol. Society*, t. IX, 1923).
129. RIVETT (M. F.). — The structure of the cytoplasm in the cells of *Alicularia Scalaris* Corda (*Ann. of Bot.*, t. XXXII, p. 207-214).
130. ROHMANN (F.) et SPITZER (W.). — *Ber. d. deutsch. chem. Gesell.*, t. XXVIII, p. 567, 1895.
- 130 bis. SERVETTAZ. — Recherches expérimentales sur le développement et la nutrition des Mousses en milieu stérilisé (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9^e sér., t. XVII, 1913).
131. SCHERRER. — Die Chromatophoren und Chondriosomen von *Anthoceros* (*Ber. d. Deut. Bot. Ges.* Bd. XXXI, p. 439-500, 1913).
132. — Untersuchungen über Bau und Vermehrung der chromatophoren usw ; bei *Anthoceros*. *Flora*, 107, 1914.
133. SCHOTTLANDER. — Beiträge, zur Kenntniss des Zellkerns und des Sexualzellen bei Kryptogamen (*Beitr. zur Biol. d. Pfl.* Bd. VI, p. 267-304, 1893).
134. SCHULTZE (W. H.). — *Verhandl. d. deut. Path. Gesell.*, XVI, p. 161, 1913.
135. SHARP (W. L.). — Spermatogenesis in *Equisetum* (*Botanical Gaz.*, t. LIV, 1912, cité d'ap. Guillermond et Mangenot).
- 136 et 137. — Spermatogenesis in *Marsilia* (*Botan. Gaz.*, t. LVIII, 1914, cité d'ap. Guillermond et Mangenot).
138. — Spermatogenesis in *Blasia* (*Botan. Gaz.*, t. LIX, 1920).
- 138 bis. — An introduction to cytology, 2^e éd., 1926.
139. STHAL. — Der Sinn der Mycorrhizen Bildung (*Jahrbücher f. Wiss. Bot.*, Bd. XXXIV, 1900).
140. STRASBURGER. — Die Geschlechtorgane und die Befruchtung bei *Marchantia polymorpha* (*Jahrb. f. Wiss. Bot.* Bd. VII, 1870).
- 140 bis. SZYMANEK (J.). — Contribution à l'étude du *Phytophthora infestans*. Parasite de la pomme de terre. Thèse Paris, 1927. Extrait des *Annales des Epiphyties*, 13^e année, 1927.
- 140 ter. THURET (G.). — Recherches sur les zoospores des algues et les anthéridies des cryptogames. *Ann. des Sc. Nat. Bot.*, sér. III, t. XVI, 1851).
141. TOUZE (H. LE). — Contribution à l'étude histologique des Fucacées (*Rev. Gén. de Bot.*, t. 24, p. 33-46, 1912).
142. TREUB. — Etudes sur les Lycopodiacées. I. (*Ann. Jard. Bot.*, vol. 4, 1884).
143. — *Ib.*, II, vol. 5, 1886.
144. — Etude sur les Lycopodiacées. L'embryon et la plantule du

- Lycopodium* (*Ann. des Sc. Bot. Nat.*, t. VIII, 1890).
145. VERNE (J.). — La formation de composés aldéhydiques aux dépens des lipides dans les glandes surrénales (*Archives d'Anatomie microscopique*, t. XXV, p. 137-143).
 146. WOYCICKY (Z.). — Sur les cristalloïdes des noyaux et les Oléoplastes chez *Ornithogalum caudatum* (*Bull. Ac. Polonaise. Sc. Nat.*, p. 25-39, 1929).
 147. WAKKER (J. H. von). — Studien über die Inhalts der Pflanzen zells. Prings H. Jahr. für wissenschaftliche Botanik., 1888.
 148. WALKER (N.). — On anormal cell fusion in the Archegonium and on Spermatogenesis in *Polytrichum* (*Ann. of Bot.*, t. XXVII p. 115-132, 1913).
 149. WEBER. — Peculiar structures occuring in the pollen tube of *Zamia*. (*Bot. Gaz.*, XXIII, 1896-1897, p. 453).
 150. WILSON. — Spermatogenesis in the Bryophyta (*Ann. of Bot.*, t. XXV, p. 415-457, 1911).
 151. WILSON (E. B.). — The cell in development and heredity. Macmillan. New-York, 3^e éd., 1928.
 152. WOODBURN (W. L.). — Spermatogenesis in certain hepaticae, (*Ib.*, p. 299-313, 1911.)
 153. — Spermatogenesis in *Blasia pusilla* (*Ann. of Bot.*, t. XXVII, p. 93-101, 1913).
 154. — Spermatogenesis in *Mnium affine* var. *ciliaris* (Grev.) (*Ann. of Bot.*, t. XXIX, p. 441-457, 1915).
 155. — Spermatogenesis in *Asterella hemispherica*. Beauv. (*Ann. of Bot.*, t. XXXVI, p. 535-540, 1922).
 156. WURSTER (T.). — Ber. d. deut. chem. Gesell., t. XXI, p. 1525, 1888.
 157. YAMAHA (G.). — Experimentelle Zytologische Beiträge (*Journal of the Faculty of Sc. Imper. Univers. of Tokyo*. Sect. III; Bot., vol. II, Part. I, p. 1-214).
 158. ZWEIBAUM et MANGENOT. — C. R. Soc. Biol., 1923

RECHERCHES SUR LA CELLULE DES HÉPATIQUES

(Constituants cellulaires, spermatogénèse normale, champignons endophytes et symbiose, spermatogénèse tératologique).

TABLE ANALYTIQUE

INTRODUCTION	105
TERMINOLOGIE	108
TECHNIQUES	110

CHAPITRE I.

Description générale de la cellule des hépatiques.....	119
--	-----

CHAPITRE II.

Rapports du vacuome et de l'ergastome chez quelques hépatiques :

1 ^{re} partie : Cellules de la tige feuillée et du thalle.....	137
1° <i>Madotheca platyphylla</i>	137
2° <i>Radula complanata</i>	151
3° <i>Plagiochila asplenioïdes</i>	155
4° <i>Lophocolea minor</i>	157
5° <i>Pellia epiphylla</i>	159
2 ^e partie : L'ergastome différencié dans les organes de multiplication.....	160

CHAPITRE III.

L'action élective du Nitrate d'Argent sur les plastes vivants, et la théorie du chondriome homogène chez les Hépatiques	175
---	-----

CHAPITRE IV.

Spermatogénèse normale, chez <i>Marchantia polymorpha</i> et <i>Fegatella conica</i>	186
1 ^{re} partie : Cytologie de la lignée sexuelle mâle jusqu'à l'avant-dernière mitose inclusivement	187
A. Le noyau et les phénomènes caryocinétiques.....	187
B. Le cytoplasme et ses constituants.....	203
2 ^e partie : La dernière mitose, la structure des spermatides et la maturation des spermatozoïdes.....	209

CHAPITRE V.

Les champignons endophytes des Hépatiques : problème de la symbiose et spermatogénèse tératologique.....	233
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	269
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	271

PLANCHES HORS TEXTE

PLANCHE I

- FIG. 1. — *Radula complanata*. P. : plastes. V : vacuoles. E : élément adulte de l'ergastome différencié appliqué à la surface de la vacuole. *a, b, c* : Jeunes éléments de l'ergastome différencié, en forme de sacs plissés appliqués à la surface de la vacuole ; *d* : jeune cellule sans ergastome, E', F : éléments adultes de l'ergastome différencié, colorés secondairement par le R. N.
- FIG. 2. — *Chiloscyphus polyanthus*. var *erectus*. Boulay. Jeune élatère. Nombreux plastes amylacés colorés en bistre par l'eau iodée. Remarquer l'abondance de matériel de l'ergastome mobile.
- FIG. 3. — *Scapania nemorosa*. Propagule unicellulaire. Vacuome avec endochromidies par le R. N., ergastome différencié.
- FIG. 4 et 5. — *Id.*
- FIG. 6. — *Madotheca platiphylla*. Jeunes tissus (cellules de 10 à 15 μ environ). A : cellule sans ergastome différencié. B : cellule à ergastome différencié. Les jeunes éléments sont en forme de verres de montre.
- FIG. 7. — *Madotheca platyphylla*. Papille à mucilage de l'extrémité de la tige. Vacuome représenté par de nombreuses et petites vacuoles colorées par le R. N.
- FIG. 8. — *Radula complanata*. Très jeunes tissus. Vacuome représenté par de petites vacuoles sphériques. Ergastome mobile représenté par de fines gouttelettes.
- FIG. 9. — *Pellia epiphylla*. Spore pluricellulaire. Présence de l'ergastome différencié dans les cellules en E. Dans ces mêmes cellules, vacuome dispersé représenté par des endochromidies et plastes amylières. Remarquer en M une cellule spéciale occupant un des pôles de la spore avec plastes plus petits, vacuome condensé en une vacuole en calotte V. Cette cellule ne renferme pas d'ergastome différencié et donne naissance au premier rhizoïde lors de la germination. Ces spores ont environ 80 μ .
- FIG. 10. — *Pellia epiphylla*. Spore pluricellulaire. Bouin. Hématoxyline, Eosine, vert lumière. On distingue la cellule mère du premier rhizoïde avec ses petits plastes. Remarquer la structure des noyaux quiescents.
- FIG. 11. — *Radula complanata*. Coloration (non vitale) secondaire de l'ergastome différencié par le rouge neutre. De *a* à *f*, altération progressive de l'ergastome en 12' environ.

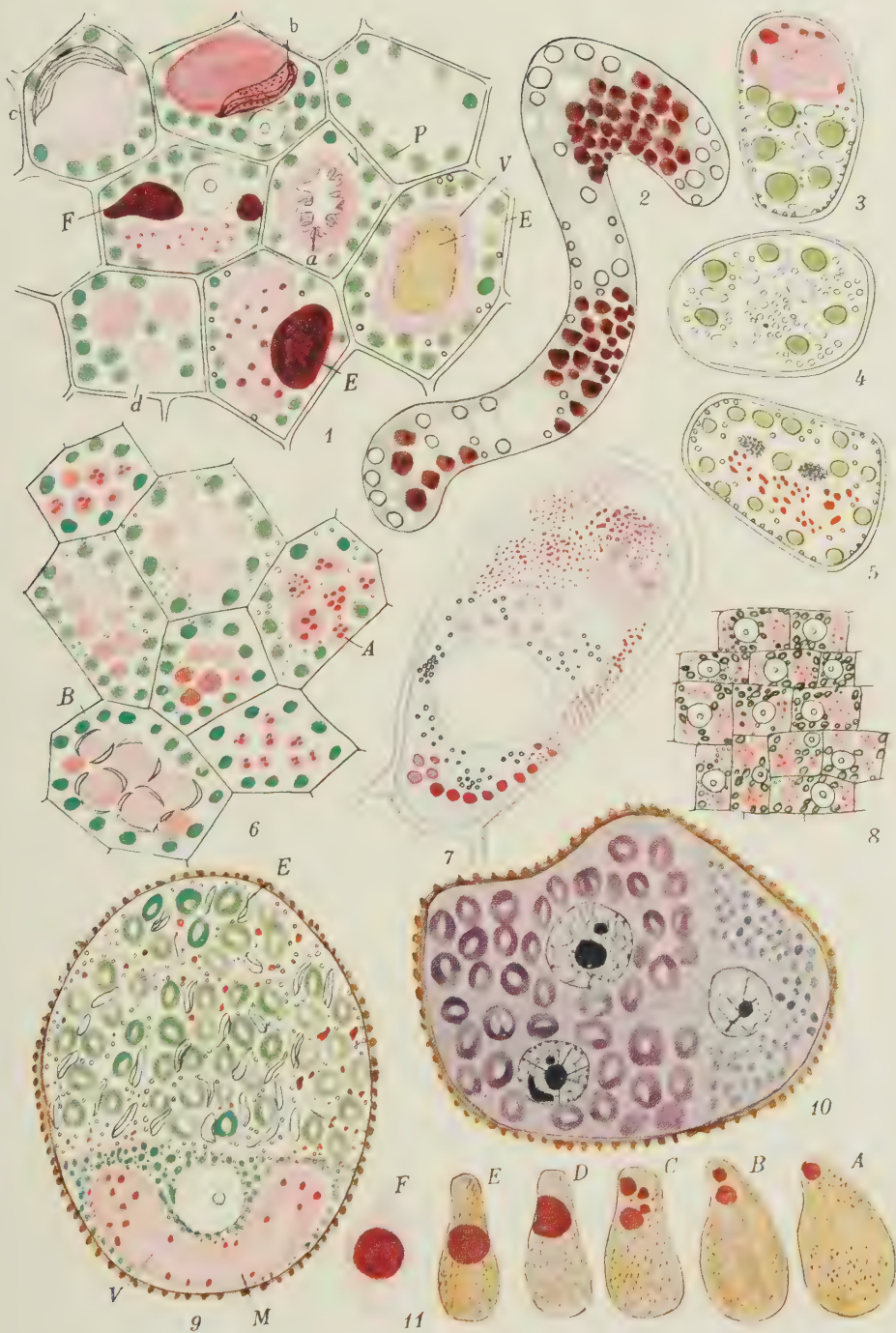


PLANCHE II

- FIG. 1. — *Marchantia polymorpha*. Bouin, Fuchsine acide, vert lumière : action d'un champignon parasite sur la gamétogenèse. N : cellules spermatidogènes normales à l'état quiescent. P : cellules spermatidogènes normales à l'état de prophase. Noter la présence d'un élément fuchsinophile représentant probablement le nucléole. G : cellules géantes. La taille passe de 5 à 20 à environ. Les noyaux sont en prophase.
- FIG. 2. — *Marchantia polymorpha*. Fixation de Flemming, triple coloration Flemming : portion d'anthéridie attaquée par un champignon parasite : c. En S, spermatides de taille réduite, descendant jusqu'à 2 à.
- FIG. 3. — *Marchantia polymorpha*. Bouin, Fuchsine acide, vert lumière. Anthéridie mûre infestée par un champignon parasite C. La paroi de l'anthéridie est en voie de destruction. Les spermatozoïdes S sont mûrs et normaux, malgré la présence du champignon.
- *FIG. 4. — *Madotheca platyphylla*. Fixation bichromate de K, acide osmique (voir techniques. Fuchsine acide, vert lumière. N : noyau. P : plastès. E : ergastome immobilisé coloré de façons diverses. M : microsomes, ou éléments de l'ergostome mobile.
- *FIG. 5. — *Madotheca platyphylla*. Même technique que fig. 4. Jeunes tissus. Remarquer les éléments de l'ergastome différencié : E. Les taches noires irrégulières : e, représentent l'ergastome actif déformé par la fixation.
- *FIG. 6. — *Madotheca platyphylla*. Coloration vitale au R. N. d'une papille à mucilage de jeune feuille. En V : vacuome à métachromatine plus abondante qu'en : V'. En P : plastès.
- *FIG. 7. — *Madotheca platyphylla*. Fixation osmiée. Jeunes éléments de l'ergastome différencié. Remarquer leur structure hétérogène.
- *FIG. 8. — *Madotheca platyphylla*. Coloration vitale par le R. N. de jeunes tissus. V : vacuoles. E : endochromidies. e : ergastome mobile.
- *FIG. 9. — *Anthoceros laevis*. Observation sur le frais. Le champignon parasite circule ici à la surface du thalle. Le mycélium M gagne la profondeur du thalle par les pores de pénétration : P. C : chromatophores. E : excroissances internes de la membrane de l'hépatique.
- FIG. 10. — *Marchantia polymorpha*. Regaud, Triple coloration de Mallory. S : spermatides normales de 5 μ . SN : spermatides naines. B : blepharoplaste. F : flagelles. Noter les différences de colorabilité des noyaux dans les deux cas.

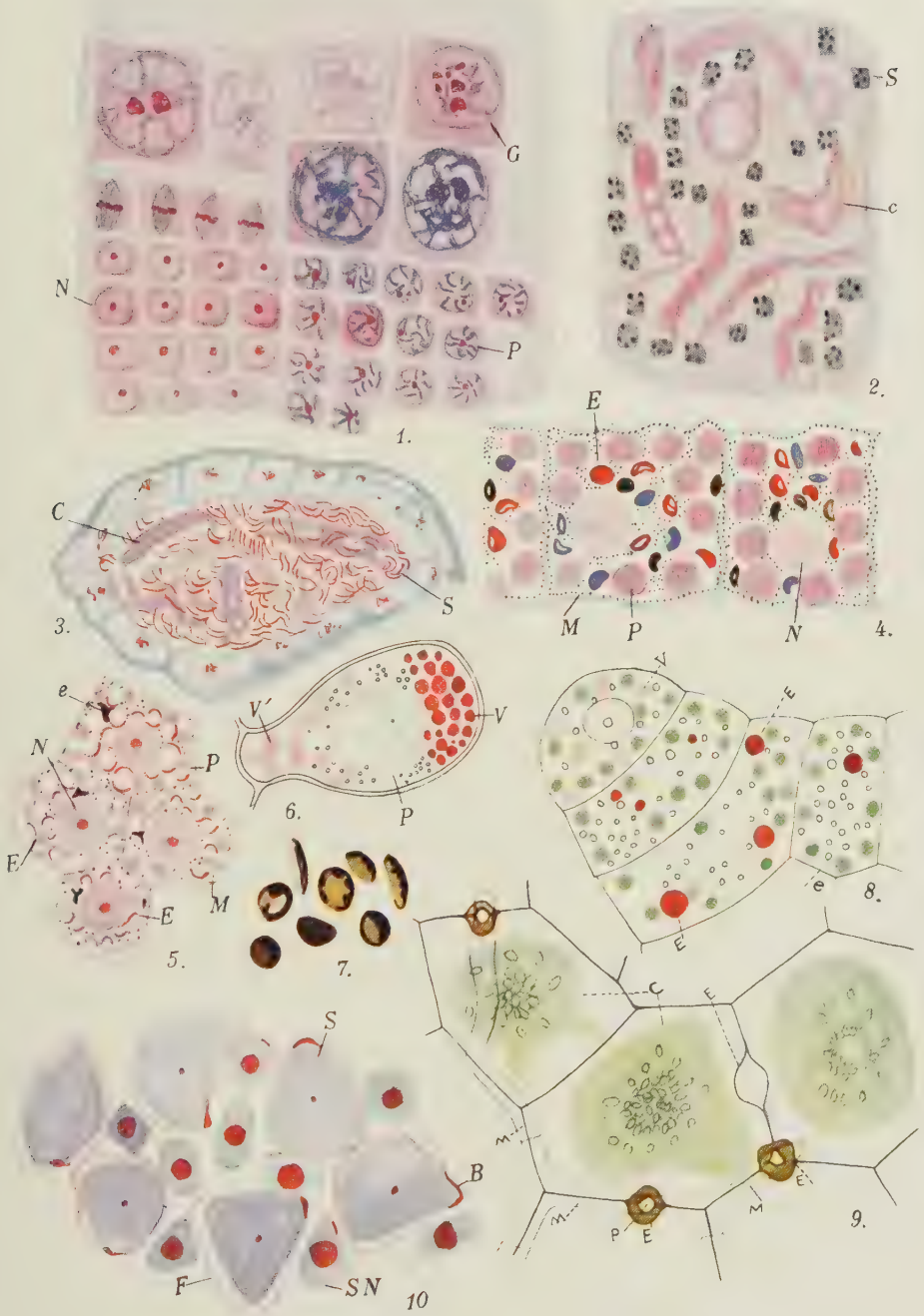


PLANCHE III

- FIG. 1, 2, 3, 4. — *Marchantia polymorpha*. Bouin, Fuchsine acide, vert Lumière. Prophasés avancées avec nucléoles visibles.
- FIG. 5 et 6. — *Fegatella conica*. Picro Formol pur. Noyau N nucléolé ; n. Plaste fuchsinophile : P. Le blépharoplaste n'est pas visible car cette méthode de coloration est assez inconstante.
- FIG. 7. — *Marchantia polymorpha*. Bouin, Fuchsine acide, vert lumière. Prophase avec garniture chromatique appliquée à la membrane nucléaire.
- FIG. 8. — *Marchantia polymorpha*. Même technique que fig. 7. Reconstitution de noyaux fils : phénomènes aberrants.
- FIG. 9 à 14. — *Marchantia polymorpha*.
- FIG. 9. — Même technique que fig. 7. Telophase. Tassement polaire considérable en C, et formation de la plaque cellulaire P.
- FIG. 10. — Regaud, Fuchsine acide, vert lumière : Spermatide. P : plaste à lacune claire amyliifère, vacuole : V.
- FIG. 11 et 12. Même technique que 10. N : noyau. P : plaste.
- FIG. 13. — Spermatide traitée sur le frais par l'iode, et montée au Baume du Canada. Plaste P à réaction amyloïde.
- FIG. 14. — Picro-Formol, Fuchsine acide, vert lumière. Plaste P. Blépharoplaste B. visibles en même temps. Flagelles F fuchsinophiles.
- FIG. 15. — *Fegatella conica*. Spermatide : technique comme fig. 13. Plaste P à réaction amyloïde.
- FIG. 16. — *Fegatella conica*. Cellule spermatidogène. Technique comme fig. 13. Plusieurs plastes P. à réaction amyloïde.
- FIG. 17. — *Marchantia polymorpha*. Cellule spermatidogène (technique comme fig. 10) modifiée par l'action du parasitisme. Petit noyau : N. Vacuome développé : V. Plastés allongés. P.
- FIG. 18. — *Marchantia polymorpha*. Picro-Formol pur, Hématoxyline. Plaste : P.
- FIG. 19. — *Marchantia polymorpha*. Fixation Flemming, et triple coloration Flemming. N : noyau. E : ergastome mobile. P : plastés (Jeune antheridie).
- *FIG. 20. — *Marchantia polymorpha*. Fixation osmiée. N : noyau. E : ergastome mobile. Spore de 12 μ .
- *0FIG. 21. — *Anthoceros laevis*. Le thalle auquel appartenait cette cellule était parasité par un champignon. N : noyau. C : chromatophore. P : Pyrénioïde coloré naturellement en rouge par des carotinoïdes (?).
- *FIG. 22. — *Locophoea minor*. Indépendance des primordia vésiculeux de l'ergastome différencié E, et du vacuome, représenté par des endochromidies e plus volumineuses dans les cellules âgées.
- *FIG. 23. — *Marchantia polymorpha*. Extrémité d'une chaînette de cellules mères de spores avant la mitose réductionnelle. Coloration de l'ergastome mobile E, très abondant, par le bleu d'indophénol naissant.
- *FIG. 24. — *Marchantia polymorpha*. Jeune élatère, avec plastés verts P, et globules de l'ergastome mobile E, colorés par le bleu d'indophénol.

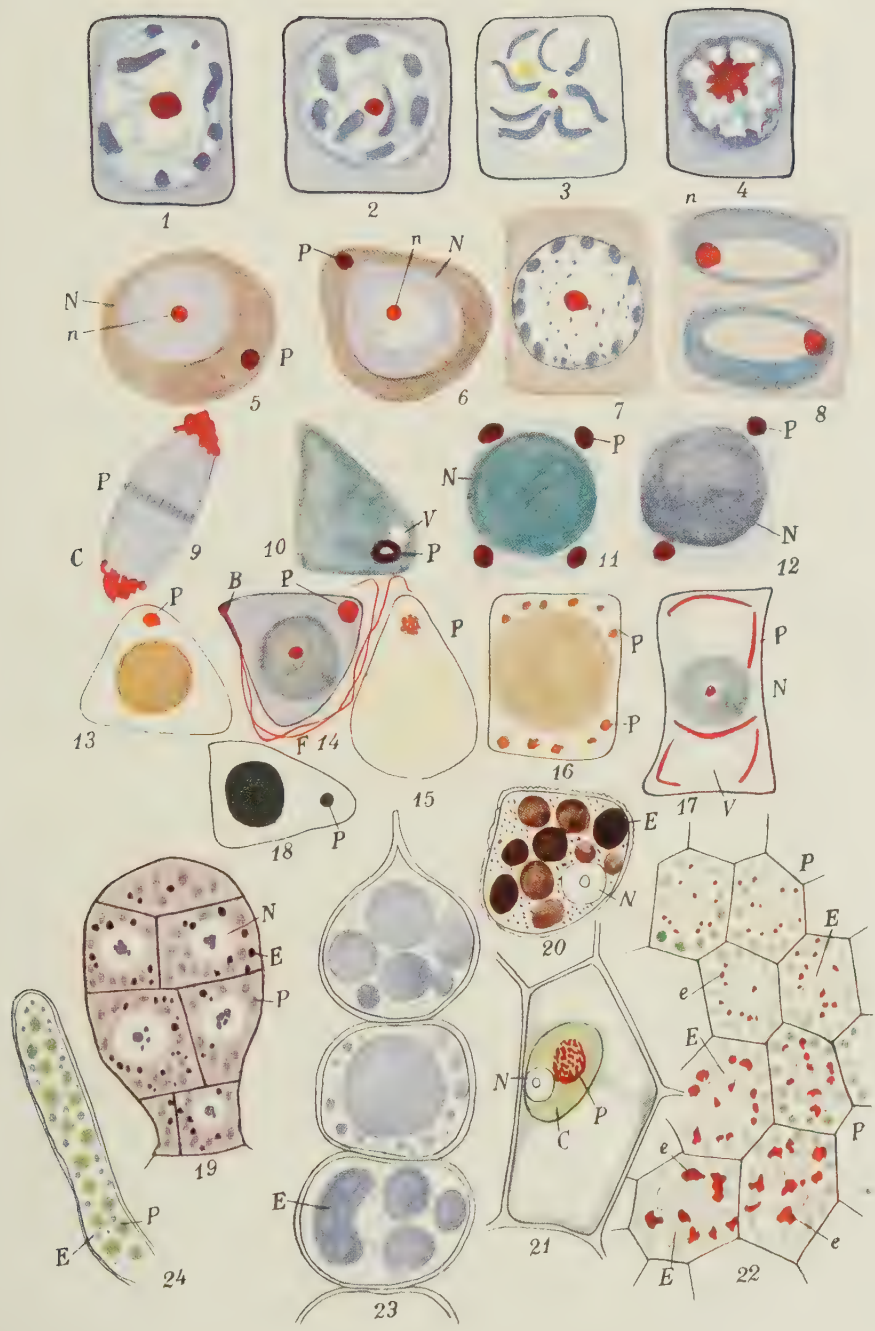


PLANCHE IV

Marchantia polymorpha.

FIG. 1 à 20. — *Bouin, Hématoxyline.*

FIG. 1. — Gonflement du nucléole précédant la prophase.

FIG. 2 et 3. — Nucléoles de noyaux quiescents.

FIG. 4. — Fragmentation du système nucléolaire. Parmi les granules, il en a un qui représente le nucléole proprement dit.

FIG. 5. — Organisation du réseau chromatique.

FIG. 6 et 7. — Condensation du réseau et formation du spirème (il ne s'agit pas à proprement parler d'un spirème, ce dernier étant ici discontinu).

FIG. 8. — Condensation du réseau chromatique à la périphérie du noyau.

FIG. 9. — Fin de prophase.

FIG. 10. — Voir fig. 5.

FIG. 11. — Fin de prophase. Comparer les éléments chromatiques fins avec ceux de la figure 9, il y a un dimorphisme très net. Rapprocher dans le même esprit les chromosomes épais des fig. 17, 18, 19, 20 de ceux de la fig. 29.

FIG. 12. — Fin de prophase avec éléments chromatiques fins.

FIG. 13. — Organisation d'une prophase à éléments fins.

FIG. 14. — Cession de chromatine par le nucléole au début de la prophase.

FIG. 15. — Etat du nucléole précédant la prophase.

FIG. 16. — Télophase. Fins granules chromatiques aux pôles représentant peut être la désintégration des chromosomes, et l'organisation des noyaux fils.

FIG. 17, 18, 19, 20. — Métaphase, plaques équatoriales vues de face. On peut compter 8 chromosomes.

FIG. 21 à 28. — *Picro-Formol pur, Hématoxyline.*

FIG. 21. — Dernière mitose. Noter les centrosomes punctiformes, non identifiables à des capuchons chondriosomiques, et la présence de deux corps chromophiles dans le fuseau (Plastes).

FIG. 22. — Mitose ordinaire de prématuration, avec plastas aux extrémités fusoriales.

FIG. 23. — Comme fig. 21.

FIG. 24. — Anaphase avec centrosomes (dernière mitose).

FIG. 25 et 26. — Télophases. On distingue deux plastas dans la substance achromatique.

FIG. 27 et 28. — Métaphases avec centrosomes. Les plastas se dirigent vers les pôles (dernière mitose).

FIG. 29 à 37. — *Bouin, Hématoxyline.*

FIG. 29. — Plaque équatoriale avec chromosomes fins.

FIG. 30. — Télophase. Fragmentation des chromosomes (?), formation du réseau chromatique des noyaux fils.

FIG. 31. — Anaphase.

FIG. 32. — Tassement polaire à la télophase.

FIG. 33. — Avant la dernière mitose : granules « pouvant être assimilées » à deux centrosomes sortant du noyau.

FIG. 34. — Début de prophase de dernière mitose avec centrosomes déjà visibles.

FIG. 35. — Prophase de dernière mitose avec centrosomes.

FIG. 36. — Fin de télophase de dernière mitose avec centrosomes très rapprochés des masses chromosomiques.

FIG. 37. — Spermatides résultant de la dernière mitose. Les deux noyaux frères possèdent un réseau chromatique. On distingue déjà les deux blépharoplastes dont la filiation avec les centrosomes des figures précédentes peut être considérée comme très probable.

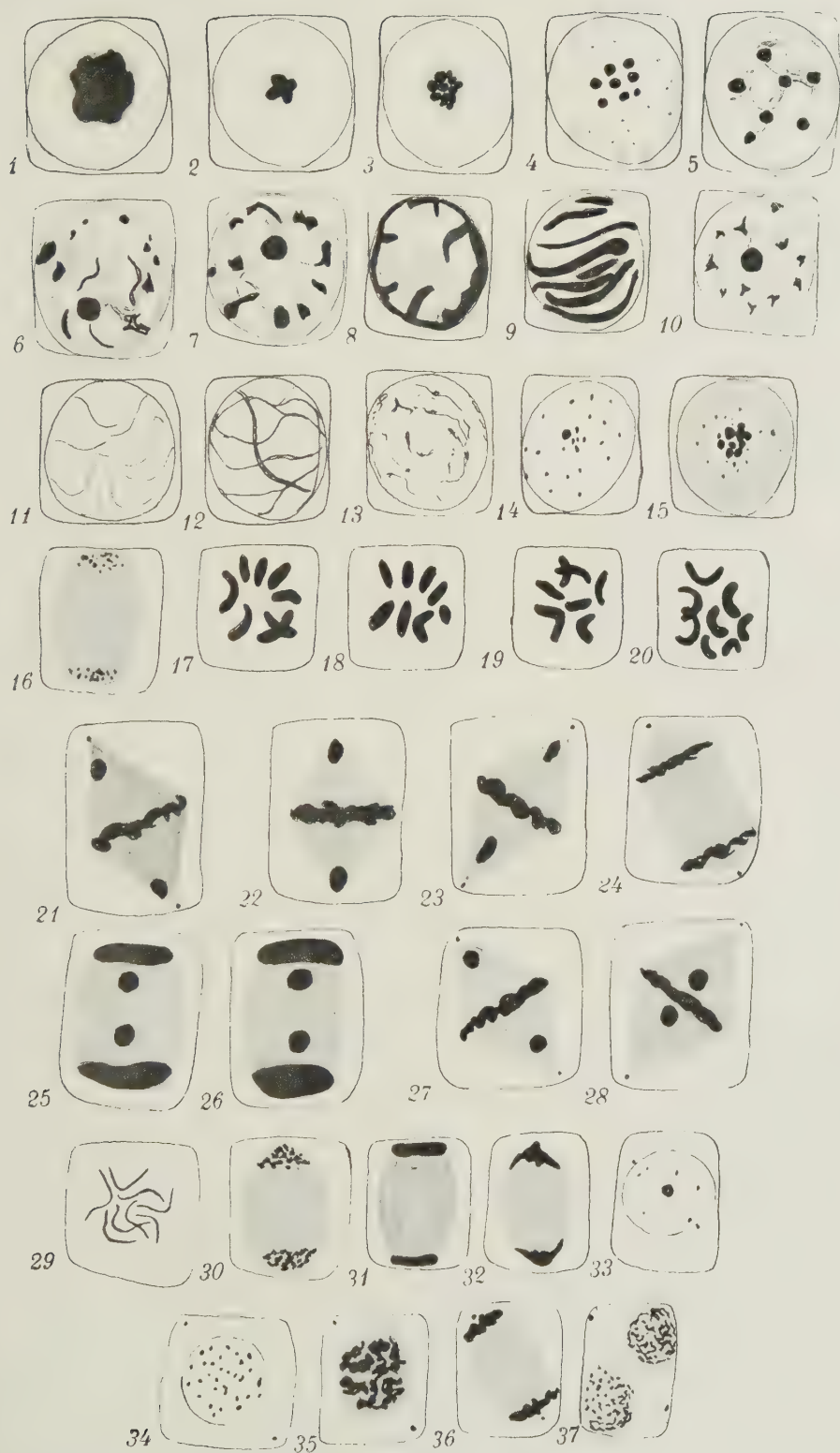


PLANCHE V

Abréviations :

B : Blépharoplaste.	M : pièce moyenne.
C : Chromatine nucléaire.	N : noyau.
CC : Corps central.	n : nucléole.
F : Flagelles.	V : Vésicule terminale.
L : Lacune de dégradation. LA : lacune chromophile du blépharoplaste ou du filament spermial.	VA : vacuole.
	G : gaine de la pièce moyenne.

Les figures ne sont pas groupées suivant l'ordre chronologique du développement.

De 1 à 12 : *Fegatella conica*. Bouin, *Hématoxyline*.

- 1 : Début d'allongement du noyau.
- 2 : Spermatide avec noyau nucléolé. Le blépharoplaste commence à s'allonger.
- 3 : Spermatide avec plaste, vacuoles, pièce moyenne et blépharoplaste, le noyau est nucléolé.
- 4 : Jonction de la pièce moyenne et du blépharoplaste. Le noyau est nucléolé.
- 5 : Allongement du blépharoplaste vers la pièce moyenne. Le noyau possède une structure très nette. Petits amas de chromatine.
- 6 : Spermatide vue par la tranche après la jonction avec le blépharoplaste d'une part en B et le plaste en P.
- 7 : Allongement du noyau vers le blépharoplaste par l'intermédiaire de la pièce moyenne formant une sorte de gaine ou de bec où s'insérera plus tard le blépharoplaste.
- 8 : Le croissant chromatique est formé et la partie antérieure un granule assimilable au corps central et la partie postérieure jonction avec le plaste.
- 9 : Croissant chromatique, jonction avec le plaste.
- 10 : Noyau possédant une structure nette.
- 11 : Allongement du noyau qui a conservé sa structure réticulée. Plaste visible.
- 12 : Spermatide géante anormale avec plusieurs formations énigmatiques dans le cytoplasme.

De 13 à 22 : *Marchantia polymorpha*. Bouin, *Hématoxyline*.

- 13 : Spermatide avec blépharoplaste et plaste.
- 14 : Noyau nucléolé possédant une structure spéciale reliant le nucléole à la périphérie du noyau.
- 15 : comme 13, mais la limite du noyau est visible.
- 16, 17, 18, *idem*.
- 19 : formation du croissant chromatique. La jonction avec le plaste n'est pas faite.
- 20 : Remarquer les lacunes de dégradation dans le corps de la spermatide. Le nucléole dans le croissant chromatique en voie de constitution et possédant une structure réticulée. Un corpuscule CC visible à une extrémité et représente peut-être le centrosome.
- 21 : étirement du croissant chromatique et masses chromatiques de désorganisation dans le corps de la plaquette.
- 22 : Le filament spermial est en voie de constitution. La partie renflée représente la partie caudale. Remarquer en L les petites lacunes chromophobes indicatrices de la persistance d'une structure.

De 23 à 33 : *Marchantia polymorpha*. Picro-Formol, *Hématoxyline*.

- 23 : Début d'allongement du noyau par formation de la pièce moyenne.
- 24 : La pièce moyenne est formée et paraît autonome. Son extrusion pourrait être ainsi plus ou moins complète selon les cas.
- 25 : Cette figure très démonstrative montre l'allongement de la pièce moyenne qui va entrer en jonction avec le blépharoplaste sur lequel s'insèrent les flagelles.
- 26 : La jonction est opérée.
- 27 *id* mais on distingue mieux le blépharoplaste.
- 28 : fix : Bouin sublimé, *Hématoxyline*. Pièce moyenne au contact du noyau.

De 29 à 35 : *Marchantia polymorpha*. Formol *hématoxyline*.

- 29 : Début de formation de la pièce moyenne.
- 30 : *Id*.
- 31, 32, 33 : jonction de la pièce moyenne et du blépharoplaste.
- 34 et 35 : Allongement du noyau vers le blépharoplaste.

De 36 à 38 : *Marchantia polymorpha*. Formol Urane, *Hématoxyline*.

- 36 : Spermatide avec blépharoplaste.
- 37 : Formation de la pièce moyenne.
- 38 : Spermatide avec plaste et blépharoplaste.

De 39 à 42 : *Marchantia polymorpha*. Bouin, *Hématoxyline*.

- 39 : Spermatozoïde mûr avec vésicule postérieure.
- 40 : Spermatozoïde mûr. Remarquer la lacune chromophile et le renflement postérieur du filament spermial.
- 41 et 42 : Agrandissement des lacunes de dégradation. Structure lacunaire du filament spermial ?
- 43 : Picro-formol *hématoxyline*. Insertion du blépharoplaste dans la gaine de la pièce moyenne. Jonction avec le plaste.

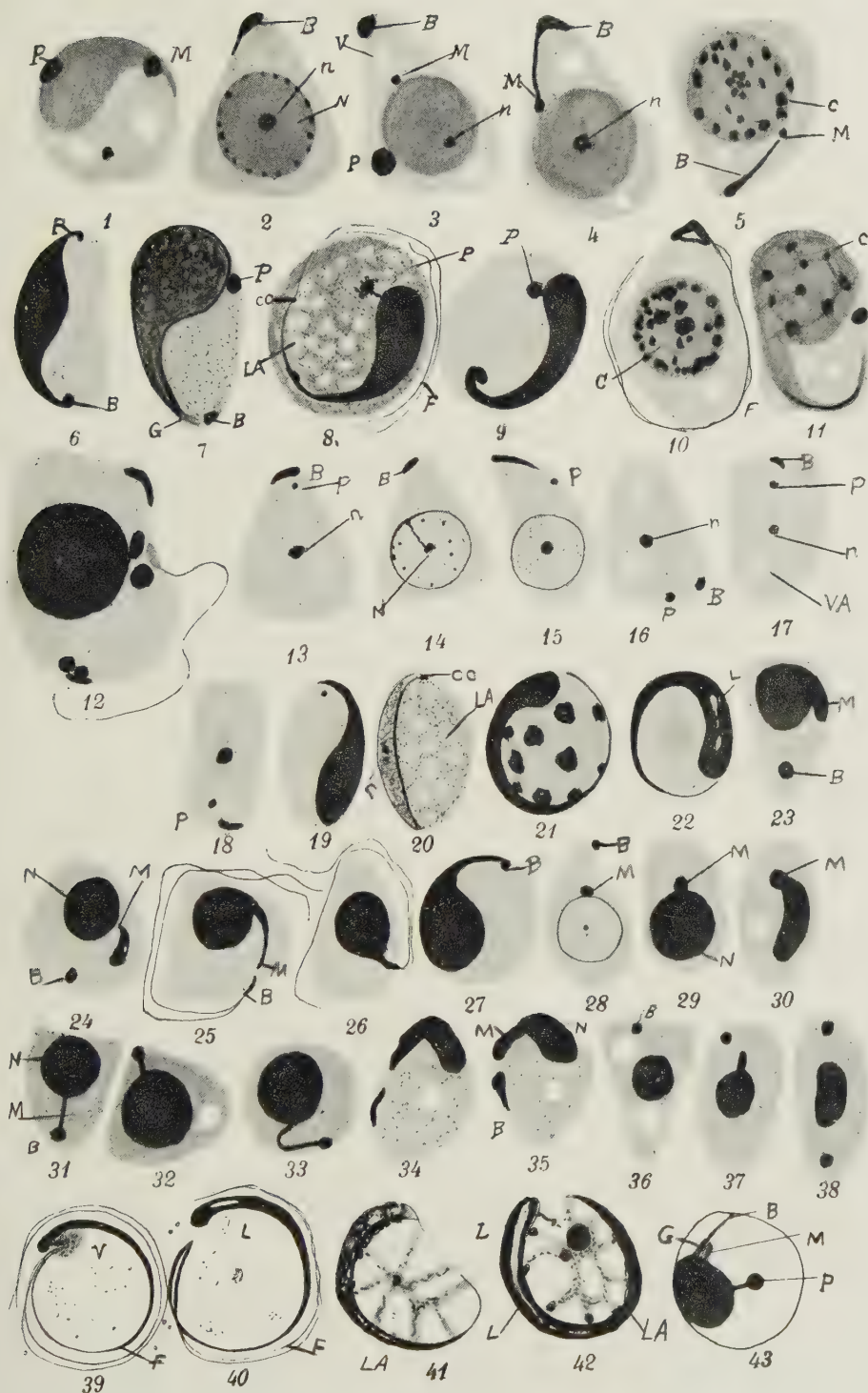
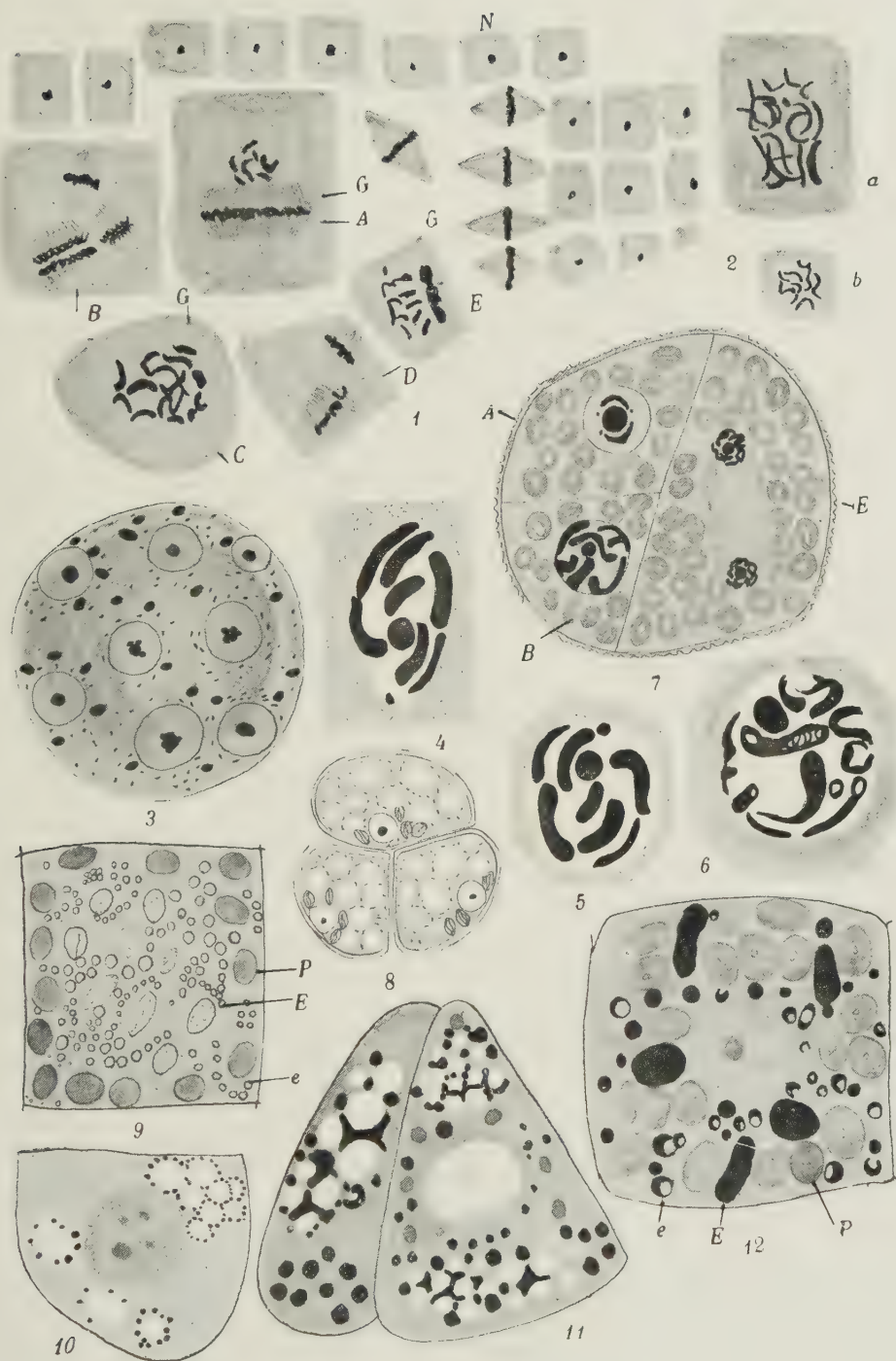


PLANCHE VI

- FIG. 1. — *Marchantia polymorpha*. Bouin, Hématoxyline. N : cellules normales. G : cellules géantes (sous l'influence du champignon parasite circulant dans le chapeau). A : prophase à grand fuseau polyploïde. B : cellule spermatidogène anormale montrant 3 fuseaux. C : plaque équatoriale montrant un nombre de chromosomes double du nombre rencontré normalement : 16 au lieu de 8. D et E autres cas de polypoïdie.
- FIG. 2. — *Marchantia polymorpha*. Technique comme fig. 1. a : cellule spermatidogène polyploïde. b : cellule spermatidogène normale.
- FIG. 3. — *Marchantia polymorpha*. Regaud, Hématoxyline. Très jeune anthéridie. Absence de cloisons. Plastes et mitosomes visibles.
- FIG. 4. — *Pellia epiphylla*. Bouin, Hématoxyline. Fin de prophase avec persistance du nucléole (prégermination de la spore).
- FIG. 5 et 6. — *Id.*
- FIG. 7. — Spore pluricellulaire de *Pellia epiphylla* en prégermination. A : noyau quiescent avec calottes chromatiques périnucléolaires. B : prophase avancée avec nucléole. E : Télophase avec reconstitution des noyaux fils et réapparition du nucléole.
- *FIG. 8. — *Marchantia polymorpha*. M. Regaud, Hématoxyline, les spores sont encore groupées en tétrades (25μ). Plastes et mitosomes.
- FIG. 9. — *Pellia epiphylla*. Cellule d'un jeune pédicelle observée sur le frais. P : plastes. E : éléments de l'ergastome différencié. e : ergastome mobile.
- FIG. 10. — *Madotheca platyphylla*, bichromate de potassium, acide osmique (voir techniques), suivie d'imprégnation osmique prolongée. Triple de Flemming. Noter l'accumulation de substances osmiophiles autour du vacuome.
- FIG. 11. — *Madotheca platyphylla*. Même technique que fig 10. Cellule apicale. Abondance de substances osmiophiles, localisation autour du vacuome.
- FIG. 12. — *Pellia epiphylla*. Cellule d'un jeune pédicelle de sporogone. Même technique que fig. 10. Comparer avec la fig. 9. P : plastes. E : ergastome différencié. e : globules déformés de l'ergastome mobile.



Imp. Jouve et Cie, 15, Rue Racine, Paris.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Physiologie. — *Les caractères sexuels secondaires chez les Oiseaux, et leur déterminisme.*

Géologie. — *Idées générales sur la théorie de la dérive des continents.*

Vu et approuvé :

Paris, le 5 Juin 1930

Le Doyen de la Faculté des Sciences

CH. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

le 6 juin 1930

